

Die Prüfung der Verwendungsfähigkeit
halbquantitativer Ionentestpapiere
zum Nachweis von Kupfer- und Chromvergiftungen

von
Joachim Rückert
aus
Coburg

1980 # 466

Aus dem Institut für Rechtsmedizin

der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. Dr. H. B. Wuermeling

Die Prüfung der Verwendungsfähigkeit halbquantitativer Ionentestpapiere zum Nachweis von Kupfer- und Chromvergiftungen

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Joachim Rückert

aus

Coburg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 27.10.1980

1.	FÜHRERFACHWISSEN UND METHODE	1
2.	ANFANG	3
2.1	Normaler Aufwärtstrend	3
2.2	Veränderungen der Kupferkonzentration von 10 bis 1000 ppm	4
2.2.1	Reinelement	4
2.2.2	Kupferkonzentration	6
2.3	Kathodische Kupferkonzentration	10
	MEINEN ELTERN IN DANKBARKEIT GEWIDMET	
2.3.1	Prüfung in Kupferkonzentration	11
2.3.2.1	Prüfung in Kupferkonzentration	12
2.3.2.2	Prüfung in Kupferkonzentration	13
2.3.2.3	Prüfung nach Veranschaulichung	14
2.3.2	ANFANG	16
2.3.2.1	Prüfung in Kupferkonzentration	16
2.3.2.2	Prüfung in Kupferkonzentration	18
2.3.2.3	Prüfung nach Veranschaulichung	19
2.3.3	Immuntestpapier für Kupfer, Fe, BAKEN	20
2.3.3.1	Prüfung in Kupferkonzentration	20
2.3.3.2	Prüfung in Kupferkonzentration	21
2.3.3.3	Prüfung nach Veranschaulichung	22

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	<u>PROBLEMSTELLUNG UND METHODIK</u>	1
2.	<u>KUPFER</u>	3
2.1	Normaler Kupferstoffwechsel	3
2.2	Veränderungen der Kupferkonzentrationen im Serum und Urin	4
2.2.1	Morbus Wilson	4
2.2.2	Kupferintoxikationen	6
2.3	Halbquantitative Kupferionenteststreifen	10
2.3.1	MERCKOQUANT [®] $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Test	11
2.3.1.1	Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung	11
2.3.1.2	Prüfung in wässrigen Kupfersalzlösungen	13
2.3.1.3	Prüfung nach Veraschung	14
2.3.2	QUANTOFIX $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{++}$	16
2.3.2.1	Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung	16
2.3.2.2	Prüfung in wässrigen Kupfersalzlösungen	18
2.3.2.3	Prüfung nach Veraschung	19
2.3.3	Ionentestpapier für Kupfer, Fa. BAKER	20
2.3.3.1	Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung	20
2.3.3.2	Prüfung in wässrigen Kupfersalzlösungen	23
2.3.3.3	Prüfung nach Veraschung	27

2.3.4	Nachweis pathologischer Kupferspiegel im Urin	29
2.3.4.1	Prüfung mit Kupfersalz präparierter Urine	29
2.3.4.1.1	Versuchsbeschreibung	29
2.3.4.1.2	Extraktion mit organischen Lösungsmitteln	32
2.3.4.1.3	Ergebnisse	34
2.3.4.2	Nachweis einer erhöhten Kupferausscheidung bei Wilson'scher Erkrankung	35
2.3.5	Nachweis von Kupfer im Blut	38
2.3.6	Analytisches Vorgehen zur Prüfung auf einen erhöhten Kupfergehalt im Urin	40
2.3.6 a)	Arbeitsvorschrift für MERCKOQUANT $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Test	40
2.3.6 b)	Arbeitsvorschrift für QUANTOFIX $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{++}$	41
3.	<u>CHROM</u>	42
3.1	Normaler Chromstoffwechsel	42
3.2	Chromvergiftungen	43
3.3	Halbquantitativer Chromat-Teststreifen	47
3.3.1	MERCKOQUANT [®] -Chromat-Test	47
3.3.1.1	Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung	47
3.3.1.2	Prüfung in wässrigen Chromatlösungen	49
3.3.1.3	Prüfung nach Veraschung	50

3.3.2	QUANTOFIX CrO_4^{--}	52
3.3.2.1	Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung	52
3.3.2.2	Prüfung in wässrigen Chromatlösungen	54
3.3.2.3	Prüfung nach Veraschung	55
3.3.3.2	Ionentestpapier Chrom, Fa. BAKER	55
3.3.3.1	Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung	55
3.3.3.2	Prüfung in wässrigen Chromatlösungen	57
3.3.3.3	Prüfung nach Veraschung	59
3.3.4	Nachweis pathologischer Chrommengen im Harn	60
3.3.4.1	Versuchsbeschreibung	60
3.3.4.2	Ergebnisse	63
3.3.5	Nachweis von Chrom im Vollblut	64
3.3.6	Analytisches Vorgehen zur Prüfung auf einen erhöhten Chromspiegel im Urin	66
3.3.6.1	Arbeitsvorschrift für MERCKOQUANT Chromat-Test	67
3.3.6.2	Arbeitsvorschrift für QUANTOFIX CrO_4^{--}	68
4.	<u>DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG</u>	68
5.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	72

Beipackzettel - Anlage 1 und 2

1. PROBLEMSTELLUNG UND METHODIK

Schwermetallvergiftungen ähneln sich in vielen Fällen hinsichtlich ihrer klinischen Symptomatik. Falls eine Anamnese nicht erhoben werden kann und das vergiftende Schwermetall nicht bekannt ist, bereitet eine genaue Klärung pathologischer Metallspiegel in Urin oder Blut Schwierigkeiten: Sie ist mit erheblichem zeitlichen und apparativen Aufwand verbunden.

Mit Hilfe der Atomabsorptions-Spektrometrie können sehr genaue quantitative Bestimmungen durchgeführt werden. Die notwendigen Apparaturen stehen aber nur relativ wenigen Instituten und Kliniken zur Verfügung. Außerdem kann die Fahndung nach einem unbekannten Metall mit pathologisch erhöhtem Spiegel langwierig sein, weil unter Umständen mehrmals spezielle Lampen vorgebrannt und Eichkurven erstellt werden müssen, da eine effektive qualitative Analyse mit dieser Methode praktisch nicht möglich ist. Eine solche qualitative Analyse ist zum Beispiel mittels Spektrographie oder Röntgenfluoreszenzanalyse möglich. Die entsprechenden Apparate sind aber kostspielig und kaum in einem klinischen Labor zu finden. Ein einfacher klinischer Schnelltest zur qualitativen Erkennung und halbquantitativen Bestimmung erhöhter Schwermetallwerte im Harn oder Blut existiert bisher nicht.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen derartigen klinischen Schnelltest zu erstellen, sowie seine Möglichkeiten und Grenzen aufzuzeigen.

Drei verschiedene Hersteller bieten halbquantitative Metallionen-Teststreifen an. Diese Streifen sind allerdings für den selektiven Nachweis eines Metalls in wässrigen Lösungen konzipiert (Wasseranalyse).

Es sollte geprüft werden, unter welchen Voraussetzungen der Nachweis pathologischer Schwermetallkonzentrationen in Urin oder Blut mit diesen Teststreifen möglich ist.

Die vorliegende Arbeit beschränkt sich dabei auf Kupfer und Chrom.

In Vorversuchen wurde zunächst die Präzision der verschiedenen Teststreifen geprüft und eine Beurteilung der Gebrauchsanweisungen bezüglich Vollständigkeit und Richtigkeit formuliert.

Anschließend wurden Harn- und Blutproben, die bekannte Mengen an Kupfer beziehungsweise Chrom enthielten, naß verascht und ihre Metallionenkonzentration mittels der Teststäbchen ermittelt.

War die Brauchbarkeit der Teststreifen grundsätzlich erwiesen, wurde geprüft, ob pathologische Kupfer- oder Chromwerte in Urin oder Blut nach Veraschung durch die Streifen erfaßt werden können.

2. KUPFER

2.1 Normaler Stoffwechsel

Kupfer wird vom menschlichen Körper in einem Tagesbedarf von 2 mg benötigt. Es ist ein wichtiges Spurenelement für die Erythropoese, ist Bestandteil einer in ihrer Bedeutung noch ungeklärten Oxydase des Serums und kommt in der prosthetischen Gruppe des Warburg'schen Atmungsfermentes vor. Der Eiweißkörper Hämokuprein enthält 0,36 % Kupfer und spielt vermutlich bei der Wirkung des Histamins eine Rolle (PSCHYREMBEL). Ein Großteil des mit der Nahrung aufgenommenen Kupfers wird nicht resorbiert, sondern mit dem Stuhl wieder ausgeschieden (BUSH et al.). Zunächst transportiert ein Serumalbumin das resorbierte Kupfer in lockerer Bindung (4 % des Serumkupfers) (PSCHYREMBEL). In der Leber findet der Einbau des Kupfers in das Caeruloplasmin statt, ein α_2 -Globulin mit einem Kupfergehalt von 0,32 % (PSCHYREMBEL), (CROSS et al.). In diesem spezifischen Transportprotein sind 96 % des Serumkupfers enthalten (PSCHYREMBEL). Die Ausscheidung des resorbierten Kupfers erfolgt in der Hauptsache über die Galle, in geringerem Maße auch über die Nieren (CROSS et al.).

Die normalen Konzentrationen des Kupfers in Serum, Vollblut und Urin variieren von Individuum zu Individuum, wie aus folgender Tabelle ersichtlich wird:

Tabelle 1: Normalwerte von Kupfer im Serum, Vollblut und Urin

Organ	Bereich (mg/l)	Autor
Serum	0,8 - 1,4	Meret et al.
	0,72 - 1,24	Hegglin
	1,2	Pschyrembel
	0,7 - 1,4	Piper
	1,1	Cross et al.
Vollblut	9,5 µg/mg TG ^{x)}	Cross et al.
	0,7 - 1,55	Geldmacher v.-Mallinckrodt, 1976
Urin	0,01 - 0,1	Meret et al., 1971
	0,12	Cross et al., 1976

x) TG = Trockengewicht

2.2 Veränderungen der Kupferkonzentration im Serum und Urin

2.2.1 Morbus Wilson

(Wilson-Krankheit, Hepatolentikuläre Degeneration)

Es handelt sich hierbei um eine genetisch bedingte, rezessiv vererbte Störung des Kupferstoffwechsels. Sie

manifestiert sich in der Regel zwischen dem 10. und 30. Lebensjahr. Der Transportprotein Caeruloplasmin wird gar nicht oder nicht in genügendem Umfang gebildet. Daraus resultiert eine Kupfertransportstörung. Die enterale Kupferresorption ist gesteigert (PSCHYREMBEL). Die "locker gebundene" Kupferfraktion des Serums (an Albumin und unspezifische Proteine) ist erhöht, während wegen der Erniedrigung des Caeruloplasmingehaltes der Gesamtkupfergehalt des Serums normal oder erniedrigt ist. Er beträgt also meist weniger als 80 $\mu\text{g}\%$ (SCHETTLER). Wegen der Erhöhung der an Albumin gebundenen Kupferfraktion sind sowohl die Kupferausscheidung mit dem Urin als auch die Akkumulation im Gewebe gesteigert.

In der Literatur fanden wir folgende Angaben über die erhöhte Ausscheidung:

Tabelle 2: Kupfergehalt im Harn bei Morbus Wilson

100 $\mu\text{g}/\text{die}$ (SCHETTLER)
200 - 800 $\mu\text{g}/\text{die}$ (POECK)
1 - 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (CROSS et al.)

Bevorzugte Ablagerungsorte sind Leber und Gehirn, deren Kupfergehalt auf mehr als das Zehnfache erhöht sein kann. Daraus resultieren degenerative Prozesse im Gehirn (Linsenkern, Hypothalamus, Cortex, Cerebellum) und Gewebeschädigungen der Leber, zunächst in Form einer hypertrophischen, später einer atrophischen Zirrhose (REED et al.), (LEU et al.).

Durch Kupfereinlagerung in die Cornea bildet sich eine ringförmige Pigmentierung, der Fleischer-Kayer-Hornhautring. Daneben können blau - braun - grüne Hautveränderungen auftreten, ebenso wie eine toxische Tubulus-schädigung, bei der (möglicherweise durch Kupfereinlagerung) die Rückresorption gestört ist.

Die Folgen hieraus sind Aminoacidurie, Proteinurie, Glucosurie und Phosphaturie. Klinisch fallen neben dem Fleischer-Kayser-Ring Ataxie, Tremor, Dysarthrie und Persönlichkeitsveränderungen auf. Als Ausdruck der Leberfunktionsstörungen treten im frühen Stadium auch Hepatitis und Milzschwellung auf. Unbehandelt verläuft die Krankheit nach Monaten bis spätestens 10 Jahren letal. Die Prognose ist bei frühzeitiger Therapie, bevor sich irreversible Hirnschäden ausbilden, günstiger (PSCHYREMBEL). Neben dem klassischen Verlauf gibt es auch eine akut verlaufende, abdominelle Form des Morbus Wilson, die nur selten auftritt. Weil bei dieser Form als einziges Symptom die Leberzirrhose auftritt, ist die Differentialdiagnose in der Regel schwierig (KRELLER).

2.2.2 Kupferintoxikationen

Metallisches Kupfer oder seine Verbindungen sind im industriellen Bereich weitverbreitete Substanzen: Metallisches Kupfer und Kupferoxide führen zur Intoxikation, wenn sie in hohen Dosen als Staub oder Dampf inhaled werden. (z.B. beim Lichtbogenschweißen). Kupferhydroxid und Kupferkarbonat sind Bestandteil zahlreicher blauer

Farbpigmente, Glasuren und Beizen. Kupferhalogenide finden im chemischen Labor, in der Photographie, der Pyrotechnik und der keramischen Industrie Verwendung. Das Kupferoxychlorid ist in vielen Fungiziden, oft auch in Kombination mit Insektiziden enthalten. Kupferazetat befindet sich in milden Ätzmitteln, Adstringentien, Beiz- und Färbemitteln. Kupfersulfat (Letaldosis per os ab 8,0 g) ist in verschiedenen Anwendungsbereichen von Bedeutung: Zur Herstellung von Farben, als Schädlingsbekämpfungsmittel, zur Holzkonservierung und im medizinischen Bereich als Adstringens (0,1 - 2 %ig), Emetikum (1 %ig) und Ätzmittel. Schließlich ist es noch Bestandteil der Fehling'schen Lösung (LUDEWIG et al., WIRTH et al.).

Akute Kupfervergiftungen sind in Europa und im angloamerikanischen Raum sehr selten, während in Indien suizidale Vergiftungen durch Kupfersalze mehr als 30 % der Intoxikationen ausmachen (CHUTTANI et al.).

Vergiftungserscheinungen treten beispielsweise nach der Einnahme von ungefähr 1 g CuSO_4 ein (CROSS et al.). Durch frühzeitiges Erbrechen und Durchfall wird meistens die Resorption größerer Mengen verhindert.

Weitere Symptome der akuten Kupfervergiftung sind schwere Bauchschmerzen, hervorgerufen durch die adstringierende und ätzende Wirkung auf Schleimhäute und bei hohen Dosen Hämaturie und zentralnervöse Erscheinungen (LUDEWIG et al.).

Umstritten bleibt die Meinung von CROSS et al., daß bei einer akuten Kupfervergiftung keine massive Speicherung von Kupfer im Gewebe eintrete.

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Kupferkonzentrationen im Harn und im Blut bei akuten Kupfervergiftungen. Die zitierten Werte differieren zum Teil beträchtlich.

Tabelle 3: Kupferkonzentrationen im Urin und Blut bei akuten Kupfervergiftungen

Organ	Bereich (mg/l)	Autor
Urin	1,4 - 1,84	Fazekas, 1964 (2 Fälle)
	65,7	Grusz-Harday, 1969 (3 Fälle)
	1,5	Cross et al., 1976
	2,6	Geldmacher- v.Mallinckrodt et al. 1969
Blut	2,5	Zober et al., 1977
	8,7 - 23,5	Grusz-Harday, 1969
	9,0	Geldmacher, 1969
	3,0 - 6,0	Klein et al., 1972
	5,5 µg/g TG ^{x)}	Cross et al., 1976

x) TG = Trockengewicht

Postmortal kann unter Umständen durch histologische Untersuchungen und die Kupferbestimmung im Lebergewebe und Gehirn eine Wilson'sche Erkrankung von einer akuten Kupfervergiftung abgegrenzt werden: Die Hirn-Kupferwerte sind bei der Vergiftung (im Gegensatz zur akuten abdominellen Form des Morbus Wilson) normal (ZOBER et al.). Auch bei tödlichen Kupfervergiftungen kann der Kupferwert der Leber durchaus im Normalbereich liegen. Als Normalwerte gibt BRANDT 0,25 - 1,73 mg/100 g Feuchtgewicht an. Für tödliche Vergiftungen gelten folgende Werte (mg Cu/100 g Feuchtgewicht):

Tabelle 4: Kupferwerte der Leber bei tödlichen Kupfervergiftungen

0,06 - 0,9	FAZEKAS, 1964 (zwei Fälle)
0,83 - 10,23	GRUSZ-HARDAY, 1969 (drei Fälle)
5,4	GELDMACHER-VON MALLINCKRODT et al., 1969 (ein Fall)

Nach POECK ergibt bei der Wilson'schen Erkrankung die Analyse eines Leberblindpunktats eine Erhöhung des Leberkupfers auf ungefähr 50 mg/100 g Trockengewicht.

Die Existenz einer chronischen Kupfervergiftung gilt als unsicher (CROSS et al.). Genauso, wie die normalen Kupferwerte in der Bevölkerung ziemlich differieren können, bestehen im Falle einer Exposition große individuelle Unterschiede: eine schottische Veröffentlichung berichtet von 5 Metallarbeitern, die mindestens 6 Jahre lang staubförmigen Kupferverbindungen ausgesetzt waren (CROSS et al.).

Folgende Konzentrationen wurden im Urin gefunden (mg/l):

0,11 0,24 1,12 5,84 8,82 (CROSS et al.)

Die höheren Werte sind mit dem Urin-Kupferspiegel des Morbus Wilson oder dem einer akuten Vergiftung vergleichbar, während die niedrigen Beispiele im Normalbereich liegen. Außerdem waren Finger- und Fußnägel sichtbar kontaminiert (grüne Verfärbungen). Die Kupferwerte lagen hier teilweise 100-fach höher als die Norm. Bei langer Exposition von Kupferstaub findet eine Speicherung in bevorzugten Geweben statt, ohne daß spezifische Vergiftungserscheinungen auftreten.

Wegen der großen Schwankungen der Urin-Kupferwerte bei exponierten Personen (Normalwerte bis akuter Vergiftungsbereich) ist die Bestimmung dieser Werte kein sicheres diagnostisches Hilfsmittel für eine - ohnehin nicht gesicherte - chronische Kupferintoxikation (CROSS et al.).

Serum- oder Vollblutdaten bei kupferexponierten Personen standen nicht zur Verfügung.

2.3 Halbquantitative Kupferionenteststreifen

Bevor die verschiedenen Kupferteststreifen auf ihre Eignung als klinischer Schnelltest hin überprüft wurden, haben wir ihre Präzision in wässrigen Kupferlösungen getestet und die Gebrauchsanweisungen hinsichtlich ihrer Verständlichkeit und Richtigkeit beurteilt.

2.3.1 MERCKOQUANT[®] Cu⁺/Cu²⁺-Test

2.3.1.1 Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung

Hersteller: E. MERCK, Darmstadt, Artikel-Nr. 10 003

Dieser Test ist in Form von Streifen erhältlich. 100 solcher Streifen sind in einer Metallbüchse abgepackt. Das Etikett der Verpackung enthält neben der Angabe des Verfallsdatums eine kurze Gebrauchsanweisung, Hinweise über das Verhalten in Anwesenheit bestimmter Anionen und eine Farbtabelle, deren Farbwerte bestimmte Kupferkonzentrationen repräsentieren. Jeder Teststreifen besteht aus einem 8,5 cm langen Kunststoffträger, an dessen Ende ein 5 x 5 mm großes quadratisches Testpapier angebracht ist.

Der Beipackzettel macht präzise Angaben über Eigenschaften, Handhabung und Störeinflüsse:

1. die minimal nachzuweisende Konzentration beträgt 2 mg/l.
2. der Nachweis ist halbquantitativ und selektiv.
3. Im pH-Bereich von 2 - 7 ist die Nachweisgenauigkeit unabhängig vom pH-Wert der zu prüfenden Lösung.
4. Umschlagen der Purpurfarbe nach Braun-Olivgrün bei Konzentration 1000 mg/l Cu⁺/Cu²⁺. In diesem Fall muß verdünnt werden, bis der Meßbereich der Farbskala erreicht ist.
5. Stark saure Lösungen (pH < 2) sind mit Natriumacetat zu puffern.

6. Keine Störung des Nachweises durch weniger als je 1000 mg/l der wichtigsten Metallionen und Anionen (detaillierte Aussagen siehe Beipackzettel, Anlage Nr. 1).
7. Beeinträchtigung durch CrO_4^{2-} , JO_4^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ (mehr als 500 mg/l) und J^- (ab 250 mg/l).
8. Entzug von Kupferionen durch Komplexbildung in Gegenwart von CN^- , $(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{3-}$ und $(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{4-}$.

Die Gebrauchsanweisung des Beipackzettels besagt:

1. Teststäbchen kurz eintauchen, Testzone voll benetzen.
2. Nach 10 - 15 s ablesen und mit der Farbskala vergleichen.

Die Farbtabelle des Etiketts zeigt 5 Werte in zunehmender Violett-Tönung für Kupferkonzentrationen:

0 10 30 100 300 mg/l

Beurteilung der Packungsinformation:

Mit den klaren, kurzen und wesentlichen Informationen, die dem MERCKOQUANT-Kupfertest beiliegen, läßt sich gezielt und problemlos arbeiten.

2.3.1.2 Prüfung des MERCKOQUANT[®] Cu⁺/Cu²⁺-Test in wässrigen Kupfersalzlösungen

Geprüft wurden die Eigenschaften der Stäbchen in 4 wässrigen Verdünnungsreihen mit 8 oder 10 verschiedenen Kupferkonzentrationen zwischen 0 und 600 mg/l, darunter diejenigen der Farbtabelle. Der pH-Wert lag zwischen 2 und 7. Die Indikatorstreifen wurden - laut Anweisung - kurz in die Prüflösung eingetaucht und nach 20 Sekunden mit der Maßstabskala verglichen.

Beobachtungen:

1. Unter Berücksichtigung der Gebrauchsanweisung stimmen die angezeigten Farbtöne sehr genau mit denen der Farbskala überein.
2. Die Streifen müssen nach 10 - 15 Sekunden, spätestens aber nach 30 Sekunden verglichen werden, weil die richtige Farbtintensität vorher noch nicht erreicht ist; danach jedoch tendieren die Streifen zur maximalen Violettfärbung. Beim Trocknen aber verblassen sie wieder.
3. Getrocknete Streifen können durch abermaliges Eintauchen in die zu prüfende Lösung aufgefrischt werden.

Diese Reproduktion des tatsächlichen Farbwertes kann aber nur ein- bis zweimal wiederholt werden, denn später werden höhere Konzentrationen angezeigt als vorhanden.

4. Die Testreaktion verläuft in dem vom Hersteller angegebenen Milieu (pH 2 - 7) zuverlässig und unabhängig vom speziellen pH-Wert.

5. Sowohl für CuSO_4 , als auch für Cu-Acetat ergaben sich gleiche Verfärbungen der Streifen.
6. Differenzierbare Farbwerte werden zwischen 300 mg/l und 5 mg/l festgestellt.
Bereits bei 600 mg/l tritt ein sofortiger Umschlag nach braun ein. Der Leerwert wird durch totale Entfärbung repräsentiert.
Im Gegensatz dazu können 5 mg/l Kupferionen zuverlässig durch einen sehr zarten rosa Schimmer der Testzone nachgewiesen werden, was auf der Farbtabelle nicht verzeichnet ist.

Bei Konzentrationen unter 5 mg/l kann eine blaß violette Färbung nach 20, oder auch erst nach 60 Sekunden eintreten.

Ein derartig schwacher Farbumschlag zeigt die Existenz von Kupferionen zwischen ungefähr 1 und 5 mg/l. Bei diesen Konzentrationen kann aber auch eine vollständige Entfärbung eintreten. Die Anzeige ist hier also unsicher.

2.3.1.3 Prüfung des MERCKOQUANT[®] $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Tests nach Veraschung

Ziel dieses Versuches war es, zu prüfen, ob der Test auch dann positiv ausfällt, wenn man kupferhaltige wässrige Lösungen, beziehungsweise Urin, dem verschiedene Mengen Kupfersalz zugegeben werden, naß verascht, zur Trockene bringt und anschließend wieder in Flüssigkeit aufnimmt.

Die Verdünnungsreihen von Kupfersulfatlösungen ($\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$: 2 - 250 mg/l) wurden vor und nach der Veraschung geprüft. Als Lösungsmittel dienten teils Wasser, teils normaler Urin.

Bei der Naßveraschung wurde folgendermaßen vorgegangen:

Zu 10 ml der jeweiligen Probelösung gibt man ca. 8 ml konzentrierte H_2SO_4 und ca. 8 ml konzentrierte HNO_3 . Anschließend wird die Lösung im Sandbad stark erhitzt und eingedampft. Wenn die Flüssigkeit sich dunkel färbt, muß tropfenweise konzentrierte HNO_3 zugegeben werden, bis die Lösung hell wird. Verfärbt sich die Probe in der Folgezeit wieder dunkelbraun, muß die Zugabe der Salpetersäure so lange wiederholt werden, bis endgültig kein Farbumschlag mehr eintritt. Erst dann kann die Lösung zur Trockene gebracht werden. Auf konzentrierte Perchlorsäure als Oxidationsmittel zur Herstellung eines vollständig weißen Veraschungsrückstandes sollte verzichtet werden, da zurückbleibende Chloratanteile eine mögliche Fehlerquelle darstellen. Durch das Veraschen werden alle organischen Bestandteile des Urins zerstört. Der Rückstand enthält nur noch anorganische Verbindungen.

Nach der Veraschung wird der Veraschungsrückstand in 10 ml Wasser aufgenommen. Das entspricht dem Ausgangsvolumen. War der pH-Wert < 2 , wurde mit 10 % NaOH und 1 n Essigsäure gepuffert.

Der anschließende Prüfungsvorgang mit den Teststreifen erfolgte wie auf Seite 12 beschrieben. Der aufgrund der Meßtabelle erwartete Farbausschlag trat bei allen wässrigen Kupfersulfatlösungen ein. Auch 4 mg/l Kupfer konnten nach dem

Veraschen noch als rosa Farbschimmer nachgewiesen werden, während der Test bei 2 mg/l Kupfer negativ ausfiel. Die gelbliche Ausgangsfarbe der Streifen entfärbte sich weiß.

Dasselbe gilt für Urin mit Zusatz von Kupfersulfat: Im Vergleich zur wässrigen Lösung fiel die Farbreaktion nach dem Veraschen nur unwesentlich schwächer aus und blieb sehr wohl im Bereich der vorgegebenen Erfahrungswerte. Die unterste Nachweisgrenze lag wieder bei 4 mg/l.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Präzision des MERCKOQUANT $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Tests auch durch Naßveraschen eines mit Kupfer angereicherten Urins und Aufnahme des Rückstandes in demineralisiertem Wasser nicht beeinträchtigt wird.

2.3.2 QUANTOFIX $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{++}$

2.3.2.1 Beschreibung, Meßbedingungen, Gebrauchsanweisung

Hersteller: Macherey. Nagel & Co., Düren

100 QUANTOFIX-Stäbchen sind in einer Kunststoffschachtel abgepackt, die als Etikett eine Farbtabelle mit Gebrauchsanweisung aufweist.

Ähnlich wie beim MERCKOQUANT-Test ist die eigentliche Testzone an einem ca. 9 cm langen Kunststoffstreifen befestigt. Die Indikatorzone hat eine Ausdehnung von 10 x 10 mm.

Zum Nachweis in sehr kleinen Proben (1 - 2 ml) empfiehlt sich die Halbierung des Streifens, damit nach Benetzung des Kupferteststäbchens noch Lösung für andere Untersuchungen bleibt.

Angaben über die Reagentien auf den Streifen werden von der Firma nicht gemacht.

Die Gebrauchsanweisung besagt:

1. Teststäbchen kurz in die Prüflösung eintauchen.
2. Vergleich mit der Farbskala der Packung nach 20 Sekunden.

Auf der Schachtel sind 3 Prüfungsbedingungen angegeben:

1. Der pH-Wert der Lösung muß zwischen 3 und 7 liegen.
2. Lösungen mit einer stärkeren Azidität als pH 3 müssen mit festem Natriumacetat gepuffert werden.
3. Konzentrierte Kupferlösungen müssen durch Verdünnen auf einen für den Skalenbereich geeigneten Wert gebracht werden.

Die Farbskala zeigt 8 Verfärbungstöne vom weißen Leerwert über blasses Rosa bis zum tiefen Violett.

Folgende Konzentrationen können mit den Stäbchen verglichen werden:

0	10	25	50	100	250	500	1000	mg/l
---	----	----	----	-----	-----	-----	------	------

Aufgrund der abgedruckten Bedienungshinweise und der er-
giebigen farbigen Vergleichsskala kann mit QUANTOFIX
 $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{++}$ gut und reproduzierbar gearbeitet werden. An-
merkungen über mögliche Störionen und ihre Beseitigung
fehlen allerdings vollständig.

2.3.2.2 Prüfung von QUANTOFIX $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{++}$ in wässrigen Kupfersalzlösungen

Geprüft wurden 3 Verdünnungsreihen mit jeweils 12 Lösun-
gen von Cu SO_4 in Wasser. Jede Reihe enthielt auch die
Konzentration der Farbskala.

Der größte getestete Kupfergehalt betrug 2000 mg/l, der
kleinste 5 mg/l.

Wir kamen zu folgenden Ergebnissen:

1. Befolgt man die Hinweise der Gebrauchsanweisung, er-
geben sich beim Vergleich der Teststäbchen mit der
Farbtabelle keine Diskrepanzen.
2. 20 Sekunden nach dem Eintauchen muß abgelesen werden.
3. Als optimales Milieu wurde pH 5 ermittelt. Bei pH 7
war die Farbtintensität etwas stärker als erwartet,
während bei pH 3 Farbqualität und Farbstärke nicht
mehr so brillant waren wie bei pH 5.

Bei pH 1,5 lagen die angezeigten Werte deutlich unter
dem Sollwert.

4. Die geringste nachgewiesene Konzentration Cu^{2+} betrug 10 mg/l. Bei 5 mg/l trat vollständige Entfärbung ein. 2000 mg/l zeigten nach 20 Sekunden dasselbe satte Violett wie bei 1000 mg/l. Die Farbe schlägt aber schnell nach braun/gelb um. Werte zwischen 10 mg/l und 1000 mg/l können also eindeutig differenziert werden.

2.3.2.3 Prüfung von QUANTOFIX $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{++}$ nach Veraschung

Kupfersulfat wurde in Urin gelöst. Die Konzentrationen des Cu^{2+} bewegten sich zwischen 1000 mg/l und 10 mg/l. Nach der Prüfung der Ansätze mit QUANTOFIX wurden jeweils 4 ml naß verascht, anschließend in insgesamt 4 ml Flüssigkeit aufgenommen und hierbei auf pH 5 eingestellt. Die richtige Azidität wurde durch die Zugabe von 10 % NaOH und 1 n Essigsäure erreicht. Der eigentliche Testvorgang, der sich anschließt, ist bereits auf den Seiten 16 bis 18 detailliert beschrieben.

Sowohl vor, als auch nach der Veraschung der CuSO_4 /Urin-Lösungen erreichten die Teststäbchen dieselbe Präzision wie bei wässrigen, unveraschenen Lösungen.

Abgelesene Werte und entsprechende Musterfärbungen auf der Packung zeigten weitgehende Übereinstimmung.

Die geringste nachgewiesene Kupferkonzentration lag bei 10 mg/l.

2.3.3 Ionentestpapier für Kupfer, Fa. BAKER

2.3.3.1 Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung

Hersteller: J.T. BAKER Chemical Co., Artikel-Nr. 4405

Ein Block enthält 12 Seiten eines rosa-farbigen filterähnlichen Papiers, die durch Perforationen in jeweils 5 Streifen unterteilt sind. Da die Streifen für den Nachweis von Kupferionen in sehr kleinen Volumina (1 - 5 ml) (in Betracht ihrer Saugfähigkeit) zu groß sind, empfiehlt es sich, sie in je 8 oder 16 Teile zu zerschneiden.

Auf diese Art ergibt eine Packung 960 Prüfpapiere. Jeder Block enthält allgemeine und spezielle Hinweise für die Handhabung. Die allgemeinen Hinweise besagen, daß die Testlösung eine Konzentration von maximal 0,5 % haben soll. Ausserdem heißt es dort: "Wenn in den einzelnen Instruktionen nicht ausdrücklich mit 'stark' oder 'schwach' auf die durch Salz- und Salpetersäure gewonnene Säure hingewiesen ist, sollte sie ungefähr 10 % entsprechen".

Die allgemeinen Hinweise gelten für alle BAKER-Testpapiere.

Die spezielle Anweisung für den Kupfertest lautet:

1. Probelösung mit Salzsäure ansäuern.
2. Testpapier eintauchen, herausnehmen und einige Minuten an der Luft trocknen.
3. Indikatorpapier in 10 % wasserhaltige Natrium- oder Ammoniumflouridlösung versenken.

4. "In Gegenwart von Kupfer erscheint sofort eine intensive rotlila Farbe auf dem Papier, die sich vertieft, wenn man das Papier der Luft aussetzt."
5. "In Abwesenheit von Kupfer wird das Papier weiß oder fast weiß, nachdem es wenige Minuten in der Fluoridlösung war."
6. "Störungen: Oxalat oder Zyanidion schwächt teilweise die Farbreaktionen, wenn in genügender Konzentration vorhanden sind."

(Die Punkte 4 - 6 sind wörtliche Zitate aus der Gebrauchsanweisung.)

Diese Hinweise über die Verfärbungswerte bleiben inhaltlich ungenügend, ganz zu schweigen von der holprigen deutschen Übersetzung.

Differenziert wird lediglich zwischen der "Gegenwart" (intensiv rotlila) und der "Abwesenheit" von Kupfer (fast weiß oder weiß).

Aus der Erwähnung des Leerwertes findet keinerlei Konzentrationsangabe Beachtung. Die Beschreibung von Zwischentönen fehlt vollständig, ebenfalls eine Farbtabelle. Allein die hier gegebenen diffusen Informationen erlauben mit dem Testpapier der Firma BAKER nur ein qualitatives Arbeiten und selbst das nur in beschränktem Umfang.

Die unklaren Angaben werden durch das "TECHNICAL SERVICE BULLETIN" der Fa. BAKER etwas mehr verdeutlicht. Hier wird

darauf hingewiesen, daß jede Sorte der BAKER-Testpapiere ein bestimmtes Metallion selektiv nachweist, auch in Gegenwart anderer Ionen. Es gibt auch eine Zahlentabelle, in der die Empfindlichkeit der einzelnen Papiere beschrieben wird.

Die Skala unterscheidet folgende Werte:

4 +	sehr stark	+ schwach positiv
3 +	stark	+ sehr schwach positiv oder zweifelhaft
2 +	klar positiv	- negativ

Für Kupferionen gilt:

Konz. (mg/l) :	1000	500	100	50	10
Farbausschlag :	4+	4+	3+	2+	-

Aus dieser Tabelle wird wenigstens deutlich, daß zwischen einem Maximalwert bei 500 mg/l und der Entfärbung der Streifen bei Werten von 10 mg/l und weniger 2 Zwischentönungen möglich sind.

Da aber Bezeichnungen wie "stark" oder "klar positiv" von "sehr stark" oder "schwach positiv" nur subjektiv zu trennen sind, kann sich der Ungeübte kein klares Bild darüber machen, welche Konzentration er ermittelt hat.

Ein Druckfehler in den speziellen Instruktionen macht die Konfusion komplett:

Während in der Gebrauchsanweisung des Blöckchens richtig angemerkt wird: "In Gegenwart von Kupfer erscheint sofort

eine intensive rotlila Farbe auf dem Papier ...", steht im TECHNICAL SERVICE BULLETIN das Gegenteil: "Ist kein Kupfer vorhanden, so wird das Testpapier eine intensive rot-violette Färbung annehmen ...".

Lediglich auf die Angaben gestützt, die der Packung bzw. der Informationsschrift zu entnehmen sind, kann man mit dem Kupferionienpapier der Firma BAKER allenfalls qualitativ arbeiten.

2.3.3.2 Prüfung von Ionentestpapier für Kupfer (BAKER) in wässrigen Kupfersalzlösungen

Die Eigenschaften der Testpapiere wurden in neun wässrigen Verdünnungsreihen geprüft (Cu^{+2} : 10 - 2550 mg/l).

Beim Vorgehen laut Gebrauchsanweisung beobachteten wir folgendes:

1. Befeuchten der Teststreifen mit CuSO_4 , gelöst in 12 % HCl (wenige Sekunden).
Unabhängig von der Cu^{2+} -Konzentration verfärben sich die Papiere einheitlich von hellrosa nach orange.
2. Trocknen der Papiere an der Luft.
3. Eintauchen in 10 %-Natriumfluoridlösung (wässrig) und 20 Sekunden darin belassen. Verfärbung nach purpur, in der Intensität abhängig von der Kupferkonzentration.

4. Beim Trocknen verändern sich die Farbtöne allmählich in Richtung violett, wobei sich nur das Farbkolorit, nicht aber die Intensität wandelt.

Fünf verschiedene Farbnuancen lassen sich differenzieren:

- | | |
|---|---------------------|
| 1. sehr starke, tiefviolette Färbung: | 500 mg/l und mehr |
| 2. stark violett: | 300 mg/l - 500 mg/l |
| 3. blasser violett, aber eindeutig: | 70 mg/l - 300 mg/l |
| 4. sehr zarte Verfärbung nach violett,
nur durch Vergleich mit Leerwert
noch ersichtlich: | 40 mg/l - 70 mg/l |
| 5. Leerwert: zart rosa Farbton: | unter 40 mg/l |

(Die angegebenen Farbtöne beziehen sich auf NaF als Reaktionslösung.)

Die Empfindlichkeit des Testpapiers ist geringer als erwartet:

Tabelle 5: Kupferionentestpapier BAKER in wässrigen Kupfersalzlösungen

Konzentration	Herstellerangabe	selbst abgelesen
mg/l		
500	4 +	4 +
100	3 +	2 +
50	2 +	±
10	-	-

Zur Erforschung der optimalen Reaktionsbedingungen wurden verschiedene Parameter verändert (pH-Wert, Reaktionslösung, Reaktionsdauer, Kupfersalze).

Abhängigkeit vom pH-Wert

Der Hersteller schreibt einen stark sauren pH-Wert der Lösung vor (HCl 10 %). Der pH-Wert liegt dann ungefähr bei 0. Verwendet man hingegen Wasser als Lösungsmittel, sind keine verwertbaren Ergebnisse zu erkennen. Statt der Verfärbung nach orange behalten die Streifen nach dem Eintauchen in die Probelösung die ursprüngliche Farbe und werden durch die Indikatorreaktion einheitlich blaß rosa.

Kontaktdauer des Teststreifens mit der Probelösung:

Ein kurzes Eintauchen der Streifen von 2 - 3 Sekunden ergibt keine anderen Werte als ein mehrminütiger Kontakt mit der Lösung.

Kontaktdauer mit der Reaktionslösung:

Eindeutige, reproduzierbare Aussagen lassen sich machen, wenn die Papiere mindestens 5 Minuten mit NaF reagiert haben. Nach 10 Minuten tritt keine Änderung der Farbwerte mehr ein. Liegt die Verweildauer in der Indikatorlösung im Sekundenbereich, können keine brauchbaren Verfärbungen festgestellt werden.

Verwendung verschiedener Kupfersalze:

Unabhängig davon, ob Kupfersulfat oder Kupferacetat verwandt wurde, ergaben sich - bei sonst gleichen Bedingungen - dieselben Verfärbungen der Testpapiere.

Verwendung verschiedener Reaktionslösungen:

Vom Hersteller werden sowohl NaF, als auch Ammoniumfluorid 10 % als geeignete Indikatorlösungen angegeben.

In Abweichung der oben genannten Farbtöne (für NaF) gilt für NH_4F :

Die Farbqualität der Streifen tendiert stärker nach rötlich. Für Konzentrationen über 100 mg/l liegen rotviolette Farb-abstufungen vor, für geringere Werte und den Leerwert rosa Verfärbungen.

Die Differenzierung von 40 mg/l bis 70 mg/l ist mit NH_4F nicht möglich. Von der leicht unterschiedlichen Farbqualität abgesehen, ist aber die Verfärbungsintensität gleich.

Wegen der größeren Genauigkeit im niedrigen Konzentrationsbereich empfiehlt sich also die Anwendung von NaF als Indikatorlösung.

Optimierte Gebrauchshinweise für Cu-Ionentestpapier BAKER

1. Einstellen der Probelösung mit HCl auf einen stark sauren Bereich (pH 0 - 1).

2. Teststreifen 3 Sekunden eintauchen.
3. Teststreifen 5 Minuten trocknen lassen.
4. 5 Minuten mit 10 % NaF-Lösung reagieren lassen.
5. Ablesen des Farbtons mit Hilfe einer vorher zu erstellenden Vergleichsskala.

2.3.3.3 Prüfung von Ionentestpapier für Kupfer (BAKER) nach Veraschung

Problematik und spezielles Vorgehen bei der Naßveraschung sind bereits an entsprechender Stelle beim MERCKOQUANT $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Test auf der Seite 14 erläutert worden. Vorangegangen wurde nach der oben empfohlenen zusammenfassenden Gebrauchsanweisung (siehe Seite 26/27). Es wurden zwei Verdünnungsreihen von Kupfersulfatlösungen (640 - 30 mg/l) angesetzt und mit 10 % HCl angesäuert. Das Versuchsvorgehen unterschied sich von dem wässrigen Vorversuch lediglich dadurch, daß statt Wasser hier normaler Urin als Lösungsmittel verwendet wurde. 10 ml jeder Prüflösung wurden verascht und der Veraschungsrückstand im ursprünglichen Flüssigkeitsvolumen (Wasser und verdünnte HCl) aufgenommen. Die anschließende Handhabung dieser Lösungen entsprach dem normalen Prüfvorgang.

Ergebnis:

Die Farbwerte unterschieden sich auch nach der Veraschung nicht von den Farbtönen der wässrigen Reihe. Man kann also auch nach der Veraschung von Urin mit den BAKER-Kupfertest-

papieren Werte von ca. 70 - 500 mg/l grob annäherungsweise erkennen. Beim Austesten von Kupfersulfat in Urin als Lösungsmittel ohne Veraschen ergaben sich vergleichbare Werte wie in wässrigen Lösungen.

Zusammenfassend kommen wir zu folgender Beurteilung:

Das Ionentestpapier der Fa. BAKER ist als klinischer Schnelltest für den Nachweis von Kupfer in Urin aus folgenden Gründen nicht empfehlenswert:

1. Die Gebrauchsanweisung ist unklar und zur Zeit irreführend.
2. Eine Farbtabelle fehlt und müßte erst durch den Laboranten angefertigt werden.
3. Die Empfindlichkeit (100 mg/l - 500 mg/l) läßt zu wünschen übrig und hält keinerlei Vergleich mit den beiden entsprechenden anderen Fabrikaten aus.

Aus diesen 3 Gründen wurde nach den bisherigen Versuchen auf die weitere Verwendung dieses Testpapiers in den anschließenden Prüfungen verzichtet. Außerdem teilte die Firma mit, daß die Produktion der BAKER-schen Testpapiere inzwischen eingestellt wurde.

2.3.4 Der Nachweis pathologischer Kupferspiegel im Urin

2.3.4.1 Prüfung mit Kupfersalz präparierter Urine

2.3.4.1.1 Versuchsbeschreibung

Nachdem sichergestellt war, daß die Teststreifen prinzipiell brauchbar waren, wurde ihre Eignung für den Nachweis pathologischer Kupferkonzentrationen im Urin untersucht.

Ausgangspunkt waren die Meßbereiche der verschiedenen Teststreifen und die im Abschnitt 2.1 und 2.2 beschriebenen Kupferwerte im Urin.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Meßbereiche der verschiedenen halbquantitativen Kupferionenteststreifen, die wir in den Versuchen des Abschnittes 2.3 ermittelt haben:

Tabelle 6: Meßbereiche halbquantitativer Kupferionenteststreifen

Bezeichnung	Meßbereich (mg/l = ppm)	Hersteller
MERCKOQUANT Cu ⁺ /Cu ²⁺ -Test	5 - 300	E. MERCK
QUANTOFIX Cu ⁺ /Cu ⁺⁺	10 - 1000	MACHEREY, NAGEL
Ionentestpapier Kupfer	100 - 500	BAKER

Die Abb. 1 gibt Aufschluß darüber, inwieweit sich diese Meßbereiche mit physiologischen und pathologischen Kupferspiegeln im Urin überschneiden:

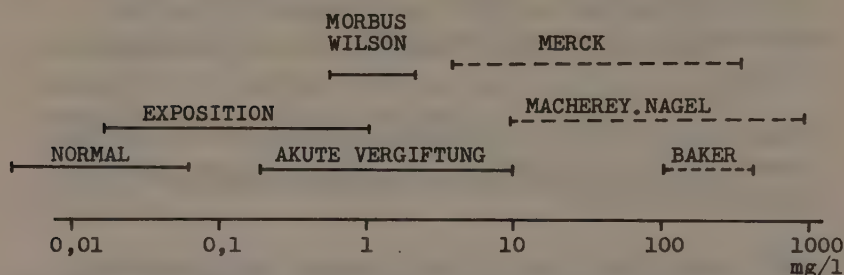


Abb. 1: Meßbereiche halbquantitativer Kupferionenteststreifen sowie Kupferspiegel im Urin bei exponierten Personen, bei akuten Kupfervergiftungen, im Normalfall und bei der Wilson'schen Erkrankung

Insgesamt wurden 43 Ansätze geprüft, darunter pathologische Urine einer Patientin mit der akuten abdominellen Form des Morbus Wilson.

Urine von akuten oder chronischen Kupferintoxikationen standen nicht zur Verfügung. Daher wurden entsprechende Kupferkonzentrationen durch den Zusatz von CuSO_4 zu physiologischen Urin simuliert. Das Fehlen von Proteinen in diesem "pathologischen Modellurin" spielte keine Rolle, da Proteine durch das obligatorische Veraschen ohnehin zerstört wurden. Das Volumen der Proben betrug 10 ml,

die Kupferkonzentrationen reichten von 1250 bis 5000 $\mu\text{g/l}$. Die Naßveraschung wurde nach der auf Seite 14 beschriebenen Methode durchgeführt. Das Aufnehmen des Veraschungsrückstandes in insgesamt 1 ml Flüssigkeit bewirkte ein Konzentrieren auf das Zehnfache. Wie sich diese Flüssigkeitsmenge im speziellen aus Wasser und Pufferlösung zusammensetzt, wird später noch erläutert.

Auf diese Weise konnte die Kupferkonzentration in der schließlich zur Messung gelangenden Lösung in den Meßbereich der Teststreifen gerückt werden.

Das wird durch die folgende Abbildung verdeutlicht:

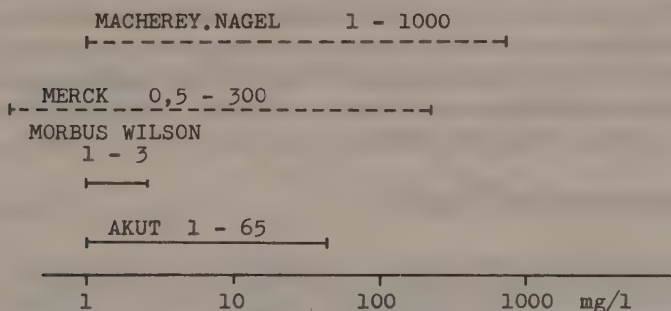


Abb. 2: Durch das Konzentrieren auf das Zehnfache können die Kupferspiegel im Urin bei akuten Kupfervergiftungen und beim Morbus Wilson mit dem Meßbereich halbquantitativer Kupferionen-Teststreifen in Einklang gebracht werden.

Wenn sich der Veraschungsrückstand in 1 ml Flüssigkeit nicht vollständig löste, mußte die Flüssigkeitsmenge verdoppelt werden. Dies war aber nur nötig, wenn beim Veraschen mit konzentrierter Perchlorsäure gearbeitet wurde. Auf Perchlorsäure sollte deshalb, wie schon oben gesagt, verzichtet werden.

Beim MERCKOQUANT-Test ergibt sich hinsichtlich der Azidität der allein mit Wasser aufgenommenen Lösungen keinerlei Komplikation, weil durch die sauren Veraschungsrückstände die Prüfbedingungen erfüllt werden.

Bei QUANTOFIX dagegen muß bei der Messung eine Azidität von ungefähr pH 5 vorliegen. Deswegen wurde der Veraschungsrückstand zuerst in 0,5 ml Wasser aufgenommen und anschließend mit NaOH 30 % und 2 n Essigsäure auf pH 5 eingestellt und anschließend auf 1 ml mit H₂O ergänzt. Die Kupferkonzentration des Urins errechnet sich näherungsweise nach folgender Formel:

Konzentration Cu²⁺ (mg/l) =

$$\frac{\text{abgelesener Wert (mg/l)} \times \text{Menge des Lösungsmittels}}{\text{veraschtes Volumen}}$$

2.3.4.1.2 Extraktion mit organischen Lösungsmitteln

Um den Einfluß von Störionen zu beseitigen, wurde in einigen Versuchen der Veraschungsrückstand mit Diäthylammonium-Diäthylthiocarbamat bei pH 5 im Schütteltrichter

extrahiert. Nach GELDMACHER et al. (1969) sind nach diesem Verfahren die meisten toxisch wichtigen Metalle extrahierbar. Die dort angegebene Arbeitsvorschrift geht allerdings nicht wie wir von 10 ml, sondern von 50 ml Urin aus.

Der Versuchsvorgang beim Extrahieren lief so ab:

1. 10 ml Urin veraschen.
2. Aufnehmen in 20 ml Wasser und Einstellen auf pH 5.
3. 2 x Extraktion im Schütteltrichter mit 1 % Diäthylammonium-Diäthylidithiocarbamat in Chloroform.
4. Eindampfen der Lösung.
5. Nachveraschen des Rückstandes.
6. Aufnehmen in H_2O (pH einrichten).
7. Test.

Weil nach der Extraktion vor dem eigentlichen Test die Lösung erst zur Trockene gebracht und erneut feucht verascht werden mußte, um die organischen Bestandteile der Extraktionslösung zu beseitigen, wurde der Zeitaufwand des gesamten Testverfahrens mehr als verdoppelt. Eine Verbesserung des Testergebnisses trat jedoch nicht ein, wohl aber die Möglichkeit neuer Fehlerquellen durch das Extrahieren und die zweite Veraschung. Geht man auch noch davon aus, daß das Diäthylammonium-Diäthylidithiocarbamat stets frisch hergestellt werden muß, wird die Umständlichkeit dieser

Methode für unsere Problemstellung ganz und gar offensichtlich: Das Verfahren erwies sich also als aufwendig und hinsichtlich der Qualität des Testergebnisses als überflüssig. Die zeitlichen Anforderungen für einen klinischen Schnelltest wurden deutlich überschritten.

2.3.4.1.3 Ergebnisse:

Die Teststreifen MERCKOQUANT $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ und QUANTOFIX $\text{Cu}^{+}/^{++}$ eignen sich für den Nachweis pathologischer Kupferspiegel im Urin, wie sie bei akuten Kupfer-Intoxikationen auftreten.

Die Ausgangskonzentrationen von 15 mg/l konnten durch Konzentrieren auf geeignete Werte gebracht werden, die beide Teststreifen sicher anzeigen.

Die Streifen verhielten sich bei diesen Versuchen genauso, wie das in den Abschnitten 2.3.1 und 2.3.2 bereits diskutiert wurde.

Also kann jede akute Kupfervergiftung erfaßt werden, während ein normaler Kupferspiegel ein negatives Ergebnis liefert. Bei Maximalfärbung erbringt ein entsprechendes Verdünnen näheren Aufschluß über die Konzentration.

Wesentlich schwieriger zu erfassen sind die Urinwerte exponierter Personen. Je nach Ausmaß der Exposition können die Konzentrationen im Normalbereich liegen oder in den Bereichen akuter Vergiftungen hineinreichen. Liegt eine chronische Vergiftung vor, bedarf es vor allem einer Klärung aus der Anamnese.

2.3.4.2 Nachweis einer erhöhten Kupferausscheidung bei Wilson'scher Erkrankung

Getestet wurde die Verwendungsmöglichkeit der Teststreifen als klinischer Schnelltest zur Früherkennung der Wilson'schen Erkrankung. Der Test sollte im günstigsten Fall ohne nennenswerten apparativen Aufwand zuverlässig den Verdacht auf einen Morbus Wilson erhärten, selbst wenn noch keine klinische Manifestation aufgetreten ist. Im Falle eines positiven Testergebnisses müßte der Patient dann anschließend einer umfassenden Untersuchung zugeführt werden. Da die Erkrankung hereditär ist, kommt der Test als Prophylaxe bei Familienangehörigen von Erkrankten infrage.

Weil die Kupfer-Serumwerte im unteren Normalbereich liegen bzw. leicht erniedrigt sind, scheidet die Untersuchung von Serum von vornherein aus. Günstigere Verhältnisse bieten sich durch das Erfassen des erhöhten Kupfergehalts in Urin: Die Konzentrationen liegen mit 1 - 3 mg/l um den Faktor 10 bis 100 höher als bei der normalen Ausscheidung.

Zur Verfügung standen 4 Dialyseharne einer Patientin, die an der akuten, abdominellen Form des Morbus Wilson erkrankt war. Die Kupferkonzentrationen der Harne waren dem Untersuchenden nicht bekannt, waren aber vorher bereits durch Polarographie quantitativ bestimmt worden.

Das von uns entwickelte Versuchsvorgehen mittels halbquantitativer Kupferionenteststreifen sollte anhand dieser Dialyseharne auf seine Brauchbarkeit geprüft werden. Im Gegensatz zu den anderen Versuchen handelte es sich um echte pathologische, das heißt nicht durch die Anreicherung mit Kupfersalz präparierte Harne.

Der Veraschungsrückstand wurde für den MERCKOQUANT Kupfertest in Wasser, für QUANTOFIX in Wasser, 10 % NaOH und 1 n Essigsäure aufgenommen.

Als qualitativer Test fiel die Messung in allen Fällen positiv aus.

Die durch den QUANTOFIX-Test ermittelten Ergebnisse lagen zwar durchwegs höher als der wirkliche Kupfergehalt, zeigten aber in jedem Fall einen pathologischen Kupferspiegel richtig an.

QUANTOFIX scheint im Rahmen der Erhärtung einer Verdachtsdiagnose oder als Vorsorgetest bei disponierten Personen geeignet zu sein.

Eine exakte Bestimmung des Kupfers durch genauere Methoden müßte sich bei einem positiven Testergebnis anschließen.

Der MERCKOQUANT-Test erwies sich auch bei den vorliegenden geringen Kupferkonzentrationen als erstaunlich präzise. Allerdings zeigte er bei Harn E nach 20 sec. noch keine Verfärbung.

Nach 60 sec. wurde aber die Anwesenheit von Kupferionen durch eine leichte Violettfärbung offensichtlich und aufgrund der Erfahrung im Umgang mit den Streifen als 5 mg/l bzw. 7 mg/l abgelesen.

Im einzelnen ergaben sich die in der Tabelle wiedergegebenen Werte:

Tabelle 7: Kupfergehalt von Dialyseharnen einer Patientin mit akutem abdominellen Morbus Wilson

Harnprobe	Datum	veraschtes Volumen (ml)	aufgen. in ml	Cu-Anzeige der Test- streifen (mg/l)	Anzeige um- gerechnet auf das Aus- gangsvolumen (ml/g)	durch Po- larographie bestimmt (mg/l)	Test- streifen
5733/78 E	9.11.78	10	1,0	5 ⁺	0,5	1,11	MERCK
5733/78 E	9.11.78	10	1,2	25	3,0	1,11	M.N.
5733/78 E	9.11.78	20	1,0	7 ⁺	1,4	1,11	MERCK
5733/78 E	9.11.78	20	1,2	25	3,0	1,11	M.N.
5733/78 E	9.11.78	20	1,0	5 ⁺	0,5	1,11	MERCK
5733/78 E	9.11.78	20	1,2	25	3,0	1,11	M.N.
5733/78 F	13./14.11. 1978	15	1,8	5	0,6	0,66	MERCK
5733/78 F	13./14.11. 1978	15	1,8	20	2,4	0,66	M.N.
5733/78 G	14.11.78	20	1,1	30	1,65	1,3	MERCK
5733/78 G	14.11.78	20	1,1	35	1,92	1,3	M.N.
5733/78 H	15.11.78	20	1,3	50	3,25	1,6	MERCK
5733/78 H	15.11.78	20	1,3	60	3,9	1,6	M.N.

+ bedeutet: abgelesen nach 60 sec
M.N. bedeutet: MACHEREY.NAGEL

2.3.5 Der Nachweis von Kupfer aus Blut

Der normale Gehalt von Kupfer im Serum ist individuell verschieden. In der Literatur finden sich Angaben von 0,7 - 1,4 mg/l (MERET et al.), bzw. 1,1 µg/m Trockengewicht (CROSS et al.).

Im akuten Vergiftungsfall können die Kupferwerte des Vollblutes zwar erhöht sein, bleiben aber - im Gegensatz zum Harn - in der gleichen Größenordnung wie die Normalwerte.

Folgende Kupferwerte finden sich bei tödlichen Kupfervergiftungen in der Literatur (siehe auch Tabelle 3, Seite 8):

GRUSZ-HARDAY, 1969 (drei Fälle)	8,7 - 23,5 mg/l
GELDMACHER-v.MALLINCKRODT et al., 1969 (1 Fall)	9,0 mg/l
KLEIN et al., 1972 (drei Fälle)	3,0 - 6,0 mg/l

Ein Absinken des Kupferspiegels allerdings, wie es von CROSS et al. in einem akuten Vergiftungsfall beschrieben wird (von 9,5 µg/g Trockengewicht im Normalfall auf 5,5 µg/g Trockengewicht im akuten Vergiftungsfall) steht im krassen Gegensatz zu allen anderen Autoren.

Beim Morbus Wilson sind die Serumkupferwerte erniedrigt oder liegen im unteren Bereich der Norm (siehe Seite 4). Für diese Krankheit scheidet also ein Nachweis im Blut von vornherein aus.

Aber auch im akuten Vergiftungsfall können die Kupferkonzentrationen so eng bei den physiologischen Werten liegen, daß eine eindeutige Abgrenzung nur durch eine genaue quantitative Analyse vorgenommen werden kann. Die Normalwerte im Vollblut bewegen sich zwischen 0,7 und 1,55 mg/l (siehe Seite 4), die Werte im akuten Vergiftungsfall zwischen 2,5 und 23,5 mg/l (siehe Seite 8). Eben diese geforderte Genauigkeit konnte experimentell durch Messung mit den halbquantitativen Teststreifen nicht erzielt werden.

Geht man von 10 ml veraschten Blutes aus, dessen Rückstand in 2 ml Flüssigkeit aufgenommen wird, findet sich bei QUANTOFIX wie auch bei MERCKOQUANT in der Regel eine zu geringe Anzeige. Andererseits kommen aber auch Meßergebnisse vor, die um 100 % höher liegen als der reale Wert. Die Kupferkonzentrationen des Blutes lagen bei diesen Versuchen zwischen 2,5 und 10 mg/l.

Allein schon wegen dieses Unsicherheitsfaktors in der Anzeige ist dem Kupfernachweis aus Urin der Vorzug zu geben, wo normale und pathologische Werte mindestens um den Faktor 10 verschieden sind.

Die Ursache für die Beeinträchtigung der Präzision ist möglicherweise im Eisen des Blutes zu suchen: legt man einen Eisengehalt des Gesamthämoglobins von 2500 mg zugrunde, ergibt sich ein Eisenspiegel von 500 mg/l, der durch das Konzentrieren auf 2500 mg/l gesteigert wird. Der Beipackzettel des MERCKOQUANT-Kupfertests besagt aber, daß ein störungsfreier Nachweis nur bis maximal 1000 mg/l Fe^{2+} oder Fe^{3+} durchgeführt werden kann.

Der Grund für die groben Störungen der Teststreifen dürfte also hier aller Wahrscheinlichkeit nach darin zu suchen sein, daß diese Grenze in den zu prüfenden Lösungen überschritten war. Außerdem wurde das Ablesen noch durch einen rötlich-braunen Niederschlag beeinträchtigt, der allem Anschein nach durch ausgefällte Eisenoxide bedingt war.

Wegen der praktischen Schwierigkeiten und der mangelnden Aussagekraft der angezeigten Kupferkonzentrationen im Blut ist auf jeden Fall Urin als zu untersuchende Probe vorzuziehen.

2.3.6 Analytisches Vorgehen zur Prüfung auf einen erhöhten Kupfergehalt im Urin

Nachdem die Methodik und die Versuchsergebnisse im Umgang mit selektiven, halbquantitativen Kupferionenteststreifen in den vorhergehenden Abschnitten im einzelnen ausführlich dargestellt wurde, soll nun noch für die beiden gut verwendbaren Arten von Teststreifen eine kurzgefaßte Arbeitsvorschrift folgen, die unsere Erfahrungen mit den Streifen berücksichtigt.

a) Arbeitsvorschrift für den MERCKOQUANT $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Test

1. 10 ml Urin werden mit ca. 8 ml konz. H_2SO_4 und ca. 8 ml konz. HNO_3 naß verascht. Wenn sich während des Eindampfens die Flüssigkeit dunkel färbt, wird tropfenweise konz. HNO_3 zugegeben, bis die Lösung hell wird. Dieser Vorgang ist zu wiederholen, bis die Lösung endgültig hell bleibt und zur Trockene gebracht werden kann.

2. Aufnehmen des Veraschungsrückstandes in 1 ml Wasser.
Sollte die Lösung trüb sein, 0,5 ml oder 1,0 ml Wasser zusätzlich hinzufügen.
3. Die Azidität muß zwischen pH 2 und 7 liegen. Im Bedarfsfall ist mit 10 % NaOH und 1 n Essigsäure zu puffern.
4. Die Teststreifen sind kurz in die Probe einzutau-
chen und nach 15 sec., spätestens aber nach 30 sec.
mit der Farbtabelle der Packung zu vergleichen.
Bei sehr niedrigen Konzentrationen deutet auch ein
violetter Farbton nach erst 60 sec. auf das Vorhan-
densein von Kupfer hin.
5. Näherungsweise kann die Kupferkonzentration des Urins
wie folgt angegeben werden:

Konzentration Cu^{+2+} (mg/l) =

abgelesener Wert x Menge des Lösungsmittels
veraschtes Volumen

b) Arbeitsvorschrift für QUANTOFIX Cu^{+2+}

Vorgehen in den Punkten 1 - 5 wie beim MERCKOQUANT
 $\text{Cu}^{+}/\text{Cu}^{2+}$ -Test.

Abweichend davon bei

3. in jedem Fall auf pH 5 einstellen (min konzentrier-
ter oder 10 % NaOH und 1 n Essigsäure)
und bei
4. ablesen erst nach 20 sec.

3. CHROM

3.1 Normaler Chromstoffwechsel

Chromverbindungen werden über den Magen-Darmtrakt resorbiert (LUDEWIG et al.). Die tägliche normale Chromzufuhr wird auf 30 - 80 µg geschätzt. Davon gelangt nur etwa 1 % in den großen Blutkreislauf. (SCHRÖDER et al.). Eine Aufnahme von Chromverbindungen über die Haut in Form von Dämpfen oder erhitzten Flüssigkeiten ist ebenfalls möglich, ist aber hauptsächlich von toxologischem Interesse.

Anorganische Verbindungen werden kaum resorbiert. Die Verteilung im Körper richtet sich nach der chemischen Struktur und der Wertigkeit des Chroms. Die biologisch aktive Form ist - neben dem 3-wertigen Chrom, das von untergeordneter Bedeutung ist - ein organischer Komplex, der Glucose-Toleranz-Faktor (GTF) (MITMAN et al.). Die Ausscheidung erfolgt zu 80 % über die Nieren, zum geringen Teil über den Stuhl (HENSCHLER).

In der folgenden Tabelle sind die Angaben verschiedener Autoren über eine normale Chrom-Ausscheidung im Urin zusammengestellt.

Tabelle 8: Normale Chrom-Ausscheidung im Urin (µg/l)

0,72	Schröder et al.
0,7 - 1,9	Schaller et al.
3,5 - 6,5	Pierce et al.
1,8 - 11,0	Imbus et al.
4,6 - 18,7	Mitman et al.

In den letzten Jahren ist die Rolle des Chroms als essentielles Spurenelement näher erforscht worden: Hohe Chromkonzentrationen in den Nucleinsäuren lassen auf eine Funktion von Chrom und anderen Übergangsmetallen im Nucleinsäurestoffwechsel schließen. Eine weitere wichtige Aufgabe scheint dem Chrom im Zusammenhang mit dem Glucosestoffwechsel zuzukommen. Hypothetisch wird davon ausgegangen, daß Chrom als GTF einen Komplex bildet, der Insulin mit den Insulinrezeptoren des Gewebes verbindet und so die initiale Interaktion ermöglicht.

Ein akuten Chromanstieg im Plasma läßt sich beim Gesunden durch Glucosegaben, beim Diabetiker durch Insulin provozieren. Das Chrom kommt aus einem körpereigenen Pool, der erschöpfbar ist, weil ein Teil des mobilisierten Chroms mit dem Harn ausgeschieden wird. Bei erhöhtem Chromspiegel im Blut ist demnach auch der Chrombedarf des Körpers erhöht.

Chrommangel kann der Grund für eine gestörte Glucosetoleranz sein. Die Empfindlichkeit des peripheren Gewebes auf exogenes und endogenes Insulin ist dabei vermindert. Folgerichtig beobachtet man bei Diabetikern aufgrund des Insulinmangels eine verstärkte Chromausscheidung (MERTZ et al.). Wahrscheinlich besteht auch ein Zusammenhang zwischen Chrommangel und einem erhöhten Serumcholesterinspiegel, sowie Störungen des Kohlehydratstoffwechsels (HENSCHLER).

3.2 Chromvergiftungen

Chrom, Cr-Legierungen und 3-wertige Chromverbindungen rufen - außer Dermatosen - keine gesundheitlichen Schäden hervor (HENSCHLER).

Gesundheitsgefährdend sind dagegen 6-wertige Chromverbindungen wie Cr-Trioxid, Chromate und Bichromate. Letztere finden meistens als Kalium- oder Natriumsalze Verwendung (TIESS et al.). Die industrielle Anwendung der Chromverbindungen ist vielfältig. Schwerpunktmäßig zu nennen sind Galvanotechnik, chemische Industrie, Textilfärberei, Gerberei und Zementherstellung (SCHALLER et al.). Akute Vergiftungen mit Chromverbindungen sind relativ selten. Dabei führen perorale Aufnahme, Inhalation von Pulver und direkter Hautkontakt immer zu einer Systemvergiftung (TIESS et al.). In suizidaler Absicht gelangen Chromverbindungen meistens per os in den Körper.

Als Letaldosis werden im Falle von Kaliumbichromat 0,5 - 2,0 g genannt, also 10 - 30 mg/kg Körpergewicht (KUHLE et al.).

Der Wirkungsmechanismus des 6-wertigen Chroms ist mit vollständiger Klarheit noch nicht erkannt. Bei Chromsäure beruht die Giftigkeit vor allem auf der Säurewirkung, bei Alkalibichromaten auf der stark oxydierenden Wirkung (MOESCHLIN). Wegen der Eiweißfällung sind beide allgemeine Zellgifte (HEYROTH).

Typische Symptome sind heftige Leibschmerzen, Erbrechen gelbgrüner, eventuell blutiger Massen. Mund- und Rachenschleimhaut sind verfärbt und geschwollen oder verätzt (LUDEWIG et al.). Durch schnelle Resorption und Ausscheidung können schwere Nierenschäden auftreten (KABIERKE). Auch zentralnervöse Störungen wie Benommenheit, Unruhe und Krämpfe kommen vor (RABBENO et al., EICHLER, ESSER). Pathologisch-anatomisch findet man Polyglobulie und Leukozytose, Anämie, fettige Leberdegeneration, perivaskuläre Infiltrate im Gehirn, Gangliennekrosen sowie tubuläre und glomeruläre Nekrosen (STAEMMLER).

Über Kreislaufdepressionen und totalen Schock tritt der Tod bei schweren Vergiftungen innerhalb weniger Stunden bis Tage ein.

Die Tabelle 9 zeigt, welche Chromwerte in verschiedenen Fällen akuter Vergiftungen mit Chromverbindungen in Urin und Blut gemessen wurden.

Tabelle 9: Chromwerte bei akuten Vergiftungen (mg/l)

U r i n	80	Tiess et al., 1970
	7 - 9	Fristedt et al., 1965
	5,5	Nöth, 1968
B l u t	1,95	Fristedt et al., 1965
	35	Grusz-Harday, 1974
	25	Tiess et al., 1970
	15	Schlatter, et al., 1973

Auch der berufliche Umgang mit 6-wertigem Chrom ist durch seine allgemeine toxische Schadenspotenz, seine Kanzerogenität und seine allergisierende Wirkung problematisch (SCHALLER et al.). An den Händen können sich - ausgehend von kleinen Läsionen - Geschwüre bilden. Durch Inhalation wird die Nasenschleimhaut trocken, die Nasenscheidewand zeigt Verätzungen und Geschwüre, die oft bis zur Perforation führen. Magen-Darm-Beschwerden treten in form von Übelkeit, Erbrechen und Durchfällen auf, häufig vergesellschaftet mit ulzerösen Läsionen an Magen und Duodenum (TIESS et al.). Allergisierende Erscheinungen werden durch Kontaktallergien oder nach der Resorption über Haut- und Schleimhäute ausgelöst (TIESS et al.).

Ein besonderes Risiko stellt die hohe carzinogene Potenz der Chromate dar. Der bevorzugte Sitz der Chromatkrebs sind Lunge und Nasenhöhle (HUEPER). Ob auch Karzinome des Magen-Darm-Traktes induziert werden, ist heute noch unklar.

Wegen dieser Gesundheitsgefährdung spielt die arbeitsmedizinische Überwachung des Chromgehalts bei exponierten Personen eine wichtige Rolle.

Die Tabelle 10 gibt vergleichend wieder, welche Chromwerte bei exponierten Personen in Urin und Blut gefunden wurden.

Tabelle 10: Chromwerte bei Chromatarbeitern ($\mu\text{g/l}$)

U r i n	51,2	Budacz, 1954
	1,4 - 24,6	Schaller et al., 1972
	0 - 380	Manusco, 1951
	0 - 832	Spannagel, 1951
	43 (Weiße)	U.S.O.H.S., 1952
	71 (Farbige)	
B l u t	80 - 5800	Spannagel
	40 / 60	U.S.O.H.S.
	Spuren - 327	Alwens
	5 - 170	Manusco
	0 - 110	Baetjer

3.3 Halbquantitative Chromat-Teststreifen

Wie schon an entsprechender Stelle beim Kupferionentest (Seite 10) werden im folgenden Abschnitt zuerst die Eigenschaften der verschiedenen Chromat-Teststreifen erläutert und anschließend ihre Verwendungsmöglichkeiten als klinischer Schnelltest beschrieben.

3.3.1 MERCKOQUANT[®] Chromat-Test

3.3.1.1 Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung

Hersteller: E. Merck, Darmstadt, Artikel 10012

Darreichungsform und Verpackung entsprechen völlig dem MERCKOQUANT $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Test (siehe Seite 11). Der Beipackzettel beinhaltet folgende Anmerkungen:

1. Sicherer Nachweis von 3 mg Chromat /l durch Rosafärbung der Testzone.
2. Halbquantitativer Nachweis mit deutlicher Abstufung zwischen 0, 3, 10 und 30 mg/l CrO_4^{2-} in zunehmender Violett-Tönung.
3. Keine Störung durch weniger als 1000 mg/l einer Vielzahl von Anionen (genaue Angaben siehe Beipackzettel, Anlage 2).

4. As^{3+} , Fe^{2+} , Sb^{3+} , Sn^{2+} , VO^{2+} , Molybdän, $(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{4-}$, S^{2-} , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ und Ascorbat reduziertem Chromat zu Cr^{3+} . In diesen Fällen Oxidation der Lösung durch Kochen nach Zusatz von Schwefelsäure 25 % und Kaliumpermanganat.
5. Störende Verfärbungen durch mehr als 10 mg/l JO_3^- , JO_4^- (rosa bis braun), 10 mg/l MnO_4^- (grau-rosa), 25 mg/l Molybdat (rosa bis blauviolett), 5 mg/l VO_3^- (blau bis weinrot), 50 mg/l $(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{3-}$ (grau bis graurosa).

Der Beipackzettel bringt anschließend detaillierte Angaben über die Störungsbeseitigung (siehe Anlage 2).

6. Der Nachweis wird durch eine Vielzahl von Metallionen in einer Konzentration von weniger als 1000 mg/l nicht beeinträchtigt.

Pb^{2+} bildet schwerlösliches Bleichromat. Dadurch wird weniger Chromat gefunden.

7. Farbveränderungen in Richtung rosa oder braun durch mehr als 10 mg/l Au^{3+} , 100 mg/l Bi^{3+} , Ce^{4+} , Cu^{2+} , 25 mg/l Fe^{3+} . Blaufärbung durch mehr als 250 mg/l Hg^+ .

Ratschläge zur Beseitigung der störenden Kationen folgen anschließend im Beipackzettel (siehe Anlage 2).

8. Mit dem Chromatetest können durch Oxidation auch Cr^{3+} -Ionen erfaßt werden:

Zugabe von 1 Spatelspitze Natriumperoxid auf 5 ml Lösung, 5 - 10 min. kochen, Einstellen auf einen pH-Wert unter 1. 100 mg/l Cr^{3+} entsprechen 222 mg/l CrO_4^{2-} .

Die Gebrauchsanweisung beinhaltet im Wesentlichen:

1. 5 ml der Probelösung mit Schwefelsäure 25 % auf pH 0 - 1 einstellen.
2. Stäbchen kurz eintauchen.
Testzone voll benetzen.
3. Nach 15 sec. feucht ablesen. Vergleich mit der Farbskala.
4. Bei Gehalten über 30 mg/l CrO_4^{2-} geeignet verdünnen.

Diese eindeutigen, übersichtlich gegliederten Informationen leiten zu zielsicherer Arbeit an.

3.3.1.2 Prüfung des MERCKOQUANT Chromat-Tests in wässrigen Salzlösungen

Die Probelösungen bestanden aus Kaliumchromat in demineralisiertem Wasser. Getestet wurden Chromatkonzentrationen zwischen 1,5 und 500 mg/l, darunter auch die Werte der Farbtabelle.

Testbedingungen und Prüfvorgang richteten sich genau nach der Gebrauchsanweisung (siehe Seite 49).

Beobachtungen:

1. Die abgelesenen Chromatwerte entsprechen genau der vorgegebenen Farbskala.

2. Es ergibt sich außerdem zwischen dem Leerwert (vollständige Entfärbung) und dem violettem Farbton für 3 mg/l noch ein zartrosa Ton für Werte unter 3 mg/l (z.B. 1,5 mg/l).
3. Die Teststäbchen verlieren beim Trocknen ihre Färbung und verblassen, so daß das Ergebnis mit Hilfe der Streifen nicht dokumentierbar ist.
4. Das stark saure Milieu muß eingehalten werden. Bei pH-Werten über 3 darf keinesfalls abgelesen werden, weil dann die Farbreaktion unvollständig oder gar nicht abläuft.
5. Ab 100 mg/l zeigt der Test eine noch intensivere Violett-färbung an, die bis 3500 mg/l einheitlich ist. Ab 3500 mg/l überlagert sich die gelbe Chromateigenfärbung mit der Indikatorfarbe in Form von Fleckenbildung.

Aufgrund der wässrigen Versuchsreihen kamen wir zu folgender Beurteilung:

Die sehr einfache Handhabung und sehr präzise Übereinstimmung der Konzentrationen mit den dazugehörigen Farbtönen überzeugen vollständig.

3.3.1.3 Prüfung des MERCKOQUANT Chromat-Test nach Veraschung

5 ml bzw. 10 ml einer Kaliumchromatlösung wurden naß verascht (siehe Seite 14). Als Lösungsmittel diente einer-

seits demineralisiertes Wasser, andererseits Urin. Die Chromat-konzentration der Lösungen bewegte sich zwischen 3 und 100 mg/l. Nach dem Aufnehmen des Veraschungs-rückstandes in Wasser und Schwefelsäure 25 % trat keinerlei Farbreaktion ein. Es wurde also in keinem Fall der Nachweis von Chromat erbracht. Der negative Ausfall ist damit zu erklären, daß durch die Veraschung das 6-wertige Chrom zu 3-wertigem reduziert worden war. Diese Reduktion war auch augenscheinlich durch den Verlust der Gelbfärbung des Veraschungsrückstandes zu bemerken. Das 3-wertige Chrom des Veraschungsrückstandes manifestierte sich als blaugrünes (nach Veraschung von 10 ml mit 30 mg/l oder 15 mg/l Chromat) oder zartgrünes Salz (7,5 mg/l). Bei geringeren Konzentrationen trat eine vollständige Entfärbung des Rückstandes ein.

In Anlehnung an die Gebrauchsanweisung (Beipackzettelan-merkung Nr. 8, Seite 48) wurde der Veraschungsrückstand oxidiert:

Nach Zugabe von 10 ml eines Gemisches aus gleichen Teilen H_2O_2 10 % und NaOH 10 % wurde die Lösung 10 min gekocht.

Als Zeichen der Oxydation des Cr(III) zu Cr(VI) färbte sich die Lösung wieder intensiv gelb. Nach Überprüfung des Volumens und Einstellen auf pH 1 reagierten die Teststäb-chen einheitlich rosa.

Für diese Störung war die Anwesenheit des Wasserstoffperoxids verantwortlich.

Das H_2O_2 mußte also zerstört werden. Als praktikabelstes Vorgehen erwies sich das nochmalige vollständige Abrauchen und erneute Aufnehmen des - nunmehr gelblichen - Rückstan-des in Wasser und Schwefelsäure.

Die Testergebnisse fielen nach dieser Prozedur nicht mehr so genau aus wie beim Versuch ohne Veraschung: Die Streifen zeigten in der Regel nur ungefähr die Hälfte der zu erwartenden Chromationen an. Vermutlich ist bei dem lebhaften Siedevorgang während der Oxidation Chromat "verlorengegangen".

Da es sich aber scheinbar nicht um ein grundsätzliches, sondern lediglich ein verfahrenstechnisches Problem handelte, wurden die Hauptversuche trotz dieser ungeklärten Frage durchgeführt.

3.3.2 QUANTOFIX CrO_4^{--}

3.3.2.1 Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung

Hersteller: Macherey.Nagel & Co, Düren

Der QUANTOFIX-Chromatetest gleicht in der Aufmachung dem entsprechenden Kupfertest (siehe Seite 16).

Gebrauchsanweisung:

1. Teststäbchen kurz in die neutrale bis saure Prüflösung eintauchen.
2. Flüssigkeitsüberschuß abschütteln und Teststäbchen mehrmals in verdünnter Salpetersäure (1 Teil konz. HNO_3 + 9 Teile H_2O) hin- und herschwenken.

3. Nach 20 sec. mit der Farbskala vergleichen. Bei Anwesenheit von CrO_4^{--} färbt sich das Testpapier violett.

Auf der Rückseite der Schachtel finden sich folgende Hinweise:

1. Liegt Chrom als Cr^{3+} vor, muß es vor der Bestimmung in CrO_4^{--} umgewandelt werden, indem man die Lösung mit Kaliumpersulfat und einer Spur AgNO_3 in saurer Lösung versetzt und aufkocht.
2. Störungen durch Fe (III), Cu (II) und Molybdate werden beseitigt, indem der Probe Oxalsäure in fester Form oder als konzentrierte Lösung zugesetzt wird.
3. Umrechnungsfaktor: $\text{Cr}^{3+} = \text{CrO}_4^{2-} \times 0,45$.

Die Farbskala der Packung unterscheidet 8 verschiedene Violett-färbungen in wachsender Intensität für 0, 5, 10, 25, 50, 100, 200 und 500 mg/l CrO_4^{2-} .

Die Bemerkungen über den Einfluß von Störionen sind im Gegensatz zum MERCKOQUANT Chromat-Test recht kurz gehalten (siehe Seite 53 oben). Sie reichen dennoch für den Umgang mit QUANTOFIX vollständig aus.

3.3.2.2 Prüfung von QUANTOFIX CrO_4^{2-} in wässrigen Chromatlösungen

Die Eigenschaften des Testes wurden zunächst mittels mehrerer Verdünnungsreihen von Kaliumchromat in wässriger Lösung geprüft. Die Konzentrationen lagen zwischen 5 und 1000 mg/l. Unter Berücksichtigung der Handhabungsweise ergab sich folgendes:

Die Farbtabelle umfaßt zwar einen größeren Bereich als bei MERCKOQUANT und enthält mehr Farbabstufungen, jedoch bereitet die Unterscheidung der eng beieinanderliegenden Farben insofern Schwierigkeiten, als ein benetztes Stäbchen häufig zwei oder gar drei verschiedenen Farbwerten zugeordnet werden kann.

Das wird noch dadurch begünstigt, daß die Farbtönungen der Tabelle - gegenüber den wirklich ermittelten - zu rötlich sind.

In Wirklichkeit tendiert die Verfärbung wesentlich mehr nach bläulich-violett.

Wie beim Kupfertest derselben Firma liegt der günstigste pH-Bereich für die Testlösung bei etwa pH 5. Unterschreitet man pH 3, wird zuviel Chromat vorgetäuscht.

QUANTOFIX CrO_4^{2-} neigt aber auch bei der geeigneten Azidität dazu, 1 Farbstufe intensiver anzuzeigen, als man erwartet. Der Test ist also in wässrigen Chromatlösungen hinsichtlich einer quantitativen Bestimmung dem MERCKOQUANT-Test deutlich unterlegen. Eine Verbesserung der Farbtabelle scheint erforderlich zu sein.

3.3.2.3 Prüfung mit QUANTOFIX CrO_4^{--} nach Veraschung

5 oder 10 ml von in Urin gelöstem Kaliumchromat wurden verascht (siehe Seite 14). Um ein positives Testergebnis zu erreichen, ist die beim MERCKOQUANT-Chromat-Test beschriebene Prozedur notwendig (siehe Seite 50 - 52):

Oxidation, Abrauchen, Aufnehmen, Test.

Beim Aufnehmen in Wasser und Einstellen der geeigneten Azidität mit NaOH 10 % und 1 n Essigsäure wurde das ursprüngliche Volumen der Proben zugrundegelegt. Es trat dieselbe Ableseproblematik wie beim wässrigen Vorversuch auf: Die Farbreihen entsprachen zwar den Tönungen der Farbskala; Werte von 10 - 500 mg/l wurden angezeigt; doch diese Ergebnisse waren für die jeweilige Konzentration immer einen Farbton zu stark.

3.3.3 IONENTESTPAPIER CHROM, Fa. BAKER

3.3.3.1 Beschreibung, Meßbedingungen und Gebrauchsanweisung

Hersteller: J.T. BAKER Chemical Co., Artikel Nr. 4413

Das Testpapier liegt wie der entsprechende Kupfertest in Form eines Blockes vor. Näheres über Darreichungsform und allgemeine Hinweise ist bereits auf Seite 20 beschrieben.

Die spezielle Anweisung für Chrom besagt:

1. Chrom muß als Chromat vorhanden sein.
2. Ein Teil der Probelösung ist mit einem Übermaß an 10 % Ätznatronlösung alkalisch zu machen.
3. Nötigenfalls Cr^{3+} in Chromat umwandeln durch Hydroperoxid oder Bleiperoxid, Kochen und Filtrieren.
4. Eintauchen für ein paar Sekunden in die Probe.
5. Eintauchen in verdünnte Salpetersäure.
6. Chrom vorhanden: Violettfärbung des Papiers. Kräftigung der Farbe beim Eintauchen in HNO_3 .
7. Chrom nicht vorhanden: Das Papier wird vielleicht violett, doch verschwindet die Farbe sofort beim Einlegen in Salpetersäure.

Die Beurteilung dieser Gebrauchsanweisung läuft auf dasselbe hinaus wie beim Kupfertest (siehe Seite 21):

Differenziert wird das Vorhandensein oder Fehlen von Chromat.

Eine Farbtabelle fehlt.

In dieser Form ist der Test also nur qualitativ.

Das "Technical Service Bulletin" ergänzt die diffusen Hinweise mittels einer Zahlenskala (siehe Seite 22).

Für Cr^{3+} wird angegeben:

Konz. (mg/l)	1000	500	100	50	10	5
Farbaus- schlag	4+	4+	3+	3+	+	-
	sehr stark		stark		schwach positiv	negativ

Differenzierbare Konzentrationen reichen also laut Hersteller von 10 bis 500 mg/l. Neben dem Leerwert sind angeblich 3 Farbtöne möglich.

3.3.3.2 Prüfung von IONENTESTPAPIER für Chrom (BAKER) in wässrigen Chromat-Lösungen

Mehrere Verdünnungsreihen mit Kaliumchromatkonzentrationen von 5 - 1000 mg/l wurden untersucht.

Der Grad der Violettfärbung hängt unter anderem auch von der Basizität der Probelösung ab. Die Gebrauchsanweisung spricht bezüglich der Basizität lediglich von einem "Übermaß an wasserhaltiger 10 % Ätznatronlösung", welches die Probelösung aufweisen soll.

Wegen der mangelnden Aussagekraft dieser Anweisung prüften wir im stark Basischen, im schwach Basischen und im Neutralen.

1. Nach Zugabe von 10 Tropfen 10 % NaOH zu 15 ml Probelösung verfärbten sich die Papiere auf die Reaktion mit HNO_3 hin schlierig und unregelmäßig violett.
2. Nach dem Zusatz von 1 Tropfen 10 % NaOH zu 15 ml Probelösung ergaben sich 3 differenzierbare Farbstufungen zwischen 30 und 500 mg/l.
3. Wenn überhaupt keine Natronlauge hinzugefügt wurde, fanden wir dieselben Farbwerte wie nach der Zugabe von 1 Tropfen NaOH.

Im Widerspruch zur Gebrauchsanweisung ist die Zugabe von NaOH also nicht notwendig.

Einen weiteren Parameter stellt die Verweildauer der Testpapiere in der verdünnten Salpetersäure dar. Nach dem Eintauchen in die leicht basische oder neutrale Prüflösung haben die Streifen einheitlich eine rosa Farbe. Beim Benetzen mit HNO_3 verfärben sie sich sofort nach violett bis blaßviolett-weißlich. Welche Aussagekraft der Grad der Verfärbung hat, wird später noch beschrieben. Während dieses Vorgangs geben die Papiere Farbstoffe ab, so daß die Salpetersäure rot schimmert. Innerhalb eines einminütigen Aufenthaltes in der Säure entfärbt sich der Streifen fast völlig. Für ein richtiges Ergebnis darf das Papier also nur kurz in HNO_3 getaucht werden.

Eine deutliche Abweichung von den Angaben des Herstellers ergibt sich hinsichtlich der Nachweisgrenze:

Konzentration	(mg/l)	50	10
Herstellerangabe		3+	+
eigene Feststellung		+	-

Folgende halbquantitative Angaben sind mit dem Test möglich:

- | | | |
|------------------------|-------|-------------------|
| 1. sehr stark violett | 4+ | = 1000, 500 mg/l |
| 2. schwach violett | 3+/2+ | = 250, 100 mg/l |
| 3. zweifelhaft violett | + | = 50, 30 mg/l |
| 4. Leerwert | - | = weniger 30 mg/l |

3.3.3.3 Prüfung von IONENTESTPAPIER für Chrom (BAKER) nach Veraschung

Wie bei den anderen Präparaten mußte Cr (III) nach dem Veraschen zu Cr (VI) oxidiert werden. Ein abschließendes Aufnehmen allein in Wasser war ausreichend, da die Probe nach der Oxidation sowieso basisch war.

Die Reaktion entsprach den 4 eben beschriebenen "Farblöcken".

Aufgrund unserer Versuche kamen wir zu folgender Beurteilung:

Der Chromatetest der Firma BAKER ist brauchbarer als der Kupfertest des selben Herstellers.

Hinsichtlich der unteren Nachweisgrenze hält er aber einen Vergleich mit den beiden anderen hier untersuchten Produkten nicht aus. Wegen der schlechten Gebrauchsanleitung und des Fehlens einer Farbtabelle ist eine Einarbeitungszeit im Umgang mit dem Präparat unbedingt nötig.

Diese Nachteile veranlassen - trotz der relativ guten Farbabstufungen - zu dem Urteil "weniger empfehlenswert". (Die Produktion der Testpapiere ist außerdem inzwischen eingestellt worden.)

3.3.4 Der Nachweis pathologischer Chrommengen im Harn

3.3.4.1 Versuchsbeschreibung

Auf den Seiten 42, 45 und 46 wurden bereits detaillierte Angaben über physiologische und pathologische Chromausscheidungen durch den Harn dargestellt.

Die folgende Tabelle zeigt übersichtsmäßig, zwischen welchen Minimal - und Maximalbereichen sich diese Werte bewegen.

Tabelle 11: Chrom- bzw. Chromatausscheidung im Harn

	Cr^{3+} ($\mu\text{g/l}$)	$\hat{=}$	CrO_4^{2-} ($\mu\text{g/l}$)
normal	0,05 - 18,7	$\hat{=}$	0,11 - 41,7
Exposition	0,05 - 832,0	$\hat{=}$	0,11 - 1890
Akute Vergiftung (mg/l)			
	5,45 - 80	$\hat{=}$	12,1 - 180

Ein weiterer Ausgangspunkt für die nächste Versuchsanordnung waren neben den eben aufgeführten Ausscheidungswerten die Meßbereiche der verschiedenen Chromateteststreifen.

Im einzelnen wurden diese Meßbereiche bereits im Abschnitt 3.3 besprochen. Die Tabelle 12 gibt einen vergleichenden Überblick über die Anwendungsbreite der Chromatteststreifen.

Tabelle 12: Meßbereiche halbquantitativer Chromatteststreifen

MERCKOQUANT Chromat-Test	3 - 30 mg/l
QUANTOFIX CrO_4^{2-}	5 - 500 mg/l
IONENTESTPAPIER Chrom (BAKER)	100 - 500 mg/l

Führt man die Werte der Tabellen 11 und 12 graphisch auf, ergibt sich folgendes Bild:

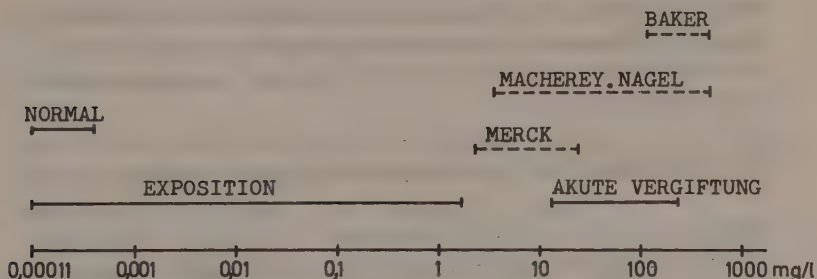


Abb. 3: Meßbereiche halbquantitativer Chromatteststreifen sowie Chromspiegel (umgerechnet auf Chromat) des Harns im Normalfall, bei exponierten Personen und bei akuten Chromvergiftungen.

Aus dem Vergleich der Chromwerte mit den Meßbereichen der Teststreifen wird klar, daß die Normalausscheidung auf keinen Fall gemessen werden kann.

Ebenso wäre das Erfassen aller bisher beschriebenen Chromatspiegel im Urin exponierter Personen nur durch ein Konzentrieren um den Faktor 1 : 100 oder 1 : 1000 gewährleistet. Selbst bei Veraschung eines entsprechend größeren Volumens (z.B. 50 ml), bliebe der Erfolg aus, weil zum Aufnehmen des entstehenden Rückstandes 1 ml oder 2 ml Flüssigkeit wegen des erheblichen Salzurückstandes bei weitem nicht ausreichen. Ein Nachweis der Urin-Chromwerte bei Exponierten in ihrer ganzen potentiellen Breite ist mit den halbquantitativen Tests also unmöglich.

Günstig liegen die Voraussetzungen bezüglich der akuten Chromintoxikationen. Die Ausscheidungswerte befinden sich hier in derselben Dimension wie der Meßbereich der Teststäbchen.

Für MERCKOQUANT muß unter Umständen sogar verdünnt werden.

Insgesamt wurden 52 Untersuchungen an normalem Urin, der mit Kaliumchromat angereichert war, durchgeführt. Das veraschte Volumen betrug in allen Fällen 10 ml. Die Chromkonzentrationen bewegten sich zwischen 10 und 180 mg/l.

Das Verfahren der Veraschung und Oxidation entsprach genau der Methode der auf den Seiten 50 - 52 beschriebenen Versuche.

Je nach Konzentration der Ausgangslösung wurde der Rückstand in 3 bis 40 ml Flüssigkeit aufgenommen. Zur Einstellung des optimalen pH-Wertes fanden die in den Versuchen erarbeiteten Kriterien Beachtung (siehe Seite 49 - 55).

Eine prophylaktische Beseitigung von Störionen durch zweimalige Extraktion im Schütteltrichter mit DDTC in Chloroform erwies sich wie bei Kupfer als nachteilig (siehe Seite 32): CrO_4^{2-} wurde nämlich gar nicht oder nur unvollständig extrahiert.

3.3.4.2 Ergebnisse

Der MERCKOQUANT Chromat-Test und QUANTOFIX CrO_4^{2-} eignen sich prinzipiell für den Nachweis einer akuten Chromvergiftung aus 10 ml Urin.

Dabei kann aber eine relativ zuverlässige quantitative Aussage über den Chromgehalt, wie sie bei den Kupferteststreifen möglich ist, nicht gemacht werden.

Anscheinend sind diese Anzeigefehler in dem recht aufwendigen Verfahren begründet.

QUANTOFIX CrO_4^{--} zeigte in etwa 50 % der Fälle den Chromgehalt richtig an, während in den anderen Fällen zuviel Chrom angezeigt wurde.

Dieses Problem tauchte auch schon während der wässrigen Versuche auf.

Gegen den Test spricht außerdem die verbesserungswürdige Farbtabelle.

Der MERCKOQUANT Chromat-Test ist zuverlässiger. Die Vergiftungswerte liegen in der Regel höher als der Maximalwert der Farbtafel und können durch Verdünnen gut aufgeschlüsselt werden.

Die Anwesenheit von Chromat wurde bei beiden Teststreifen und in allen Fällen registriert.

Da die Konzentrationen bei Intoxikationen vom normalen Bereich sehr weit entfernt liegen, kann also ein positiver Ausschlag des Indikatorpapiers als Bestätigung eines Verdachtes auf eine Chromvergiftung gewertet werden, gleichgültig ob der angezeigte Wert quantitativ nun genau stimmt oder nicht. Normale Konzentrationen führen nämlich nie zu einem positiven Ausschlag. Auf eine erhöhte Chromausscheidung bei chronischen Vergiftungen exponierter Personen muß mit empfindlicheren Verfahren, wie z.B. der Atomabsorptions-Spektrometrie geprüft werden.

3.3.5 Der Nachweis von Chrom im Vollblut

Die bereits in den Abschnitten 3.1 und 3.2 zitierten Chromwerte des Blutes sind in der Tabelle 13 übersichtsmäßig zusammengefaßt.

Tabelle 13: Chromwerte des Vollblutes und deren Umrechnung in Chromat

	Cr^{3+} ($\mu\text{g/l}$)	$\hat{=} \text{CrO}_4^{2-}$ ($\mu\text{g/l}$)
Normal	12,8 - 55,4	$\hat{=} 28,6 - 120,8$
Exposition	Spuren - 327 (5800 ?)	$\hat{=} \text{Spuren} - 726$
Akute Vergiftung	1,9 - 35 mg/l	$\hat{=} 4,33 - 77,7 \text{ mg/l}$

Die untere Nachweisgrenze der Chromat-Teststreifen läßt sich (zumindest theoretisch) mit den Werten für akute Chromvergiftungen gut in Einklang bringen. Der Nachweis normaler Chromspiegel im Vollblut scheidet - wie auch bei exponierten Personen - wegen der geringen Konzentrationen aus.

Um die Eignung der Stäbchen für den Nachweis akuter Chromvergiftungen aus dem Blut zu prüfen, wurden Proben aus 10 ml Leichenblut und Kaliumchromat naßverascht:

Cr^{3+} : 15 - 35 mg/l.

Die Maßnahmen zum Erreichen der notwendigen Prüfbedingungen entsprachen dem Vorgehen bei Urin:

Veraschen, Oxidation, Abrauchen, Aufnehmen, pH-Wert einstellen, Test.

Dabei traten ähnliche Probleme auf wie beim Kupfertest:

Die Veraschung des Blutes dauert länger als die von Urin. Nach dem Aufnehmen und Einstellen im sauren Bereich bildet sich ein rotbrauner Niederschlag (Eisenverbindungen), der nicht nur durch seine Störionen die Testreaktion an sich beeinflußt, sondern auch durch seine Ablagerungen

auf dem Testpapier die Beurteilung der Indikatorfärbung erschwert. Also wäre Filtrieren oder Zentrifugieren erforderlich, die aber bei der geringen Lösungsmenge schlecht durchführbar ist.

Der Chromat-Test der Firma BAKER zeigte 175 mg/l qualitativ an, während 75 mg/l nicht erfaßt wurden.

QUANTOFIX CrO_4^{2-} schnitt am besten ab und lag (bei 75 wie 175 mg/l) quantitativ sehr nahe bei den Sollwerten.

Nur 10 - 20 % der realen Konzentrationen wurden durch MERCKOQUANT erfaßt. Dieser Test reagierte am anfälligsten auf den massiven Störioneneinfluß.

Das Erfassen einer akuten Chromvergiftung mit Hilfe von 10 ml Blut ist also qualitativ oder grob quantitativ (QUANTOFIX) möglich.

Aufgrund der problemloseren Handhabung und der besseren Ergebnisse ist jedoch Urin als Analysenprobe vorzuziehen.

3.3.6 Analytisches Vorgehen zur Prüfung auf einen erhöhten Chromgehalt im Urin

Wie schon im Kapitel über die Kupferionen-Teststreifen folgen abschließend kurzgefaßte Arbeitsvorschriften für die beiden Sorten von Chromat-Teststreifen, die den Anforderungen unserer Problemstellung gerecht werden konnten.

3.3.6.1 Arbeitsvorschrift für den MERCKOQUANT[®]-Chromat-Test

1. 10 ml Urin werden naß verascht. (Veraschung siehe Seite 40, Anweisung Kupfer).
2. Aufnehmen des Veraschungsrückstandes in 20 ml eines Gemisches aus 10 % H_2O_2 und 10 % NaOH.
3. Sieden lassen und zur Trockene bringen.
4. Aufnehmen in 40 ml Wasser.
5. Einstellen eines pH-Wertes von 0 - 1 durch konz. HCl oder konz. H_2SO_4 .
6. Kurzes Eintauchen der Teststreifen.
Vergleich mit der Farbskala nach 15 sec.
Bei Maximalanzeige (30 mg/l) nochmals 40 ml Wasser hinzufügen und erneut prüfen.

Violette Färbung bedeutet: Chromvergiftung

Völlige Entfärbung bedeutet: Keine akute Chromvergiftung

7. Annähernd kann man die Chrom- bzw. Chromatkonzentration der Ausgangslösung errechnen:

$$\text{Konzentration } \text{CrO}_4^{2-} \text{ (mg/l) = } \frac{\text{abgelesener Wert} \times \text{Menge des Lösungsmittels}}{\text{verashtes Volumen}}$$

$$\text{Umrechnungsfaktor: } \text{Cr}^{3+} = \text{CrO}_4^{2-} \times 0,45$$

3.3.6.2 Arbeitsvorschrift für QUANTOFIX CrO_4^{--}

Die Handhabung gleicht dem MERCKOQUANT Chromat-Test mit folgenden Abweichungen:

- bei 5. Einstellen auf pH 5 mit verdünnter HCl oder H_2SO_4 .
- bei 6. Kurzes Eintauchen in die Testlösung. Flüssigkeitsüberschuß abschütteln. Mehrmals in verdünnter HNO_3 schwenken (1 Teil konz. HNO_3 - 9 Teile H_2O). Vergleich mit der Farbskala nach 20 sec.

4. Diskussion und Zusammenfassung

Zur Verfügung standen die halbquantitativen Ionenteststreifen dreier Hersteller, der Firmen MERCK, MACHEREY NAGEL und BAKER. Untersucht wurden die Teststreifen für Kupfer- und Chromationen. Es sollte geklärt werden, inwieweit sich die Ionenteststreifen als klinischer Schnelltest für den selektiven Nachweis von Metallen bei erhöhten Metallspiegeln im Urin oder Blut eignen.

In Versuchen wurden zuerst die Angaben der Herstellerfirmen bezüglich Handhabung und Empfindlichkeit der Streifen in wässrigen Salzlösungen überprüft. Es wurde außerdem untersucht, inwieweit mit den Teststreifen nach einer Naßveraschung und dem Aufnehmen des Veraschungsrückstandes in Wasser quantitative Aussagen über den Kupfer- bzw. Chromgehalt der Ausgangslösung gemacht werden können. War die

Brauchbarkeit der Streifen prinzipiell gesichert, wurde getestet, ob auch der Nachweis pathologischer Kupfer- oder Chromspiegel aus dem Harn oder Blut möglich sind.

Die Beurteilung der verschiedenen Teststreifen fiel folgendermaßen aus:

Der MERCKOQUANT [®] $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Test eignete sich sehr gut für den selektiven, halbquantitativen Nachweis von Kupferionen aus wässrigen, mit Kupfersalz angereicherten Lösungen. Die Farbwerte der Teststreifen deckten sich mit denen der beiliegenden Farbtabelle. Ebenso präzise gelang die Darstellung von Kupfer aus 10 ml Urin, der naß verascht, zur Trockene gebracht und in Wasser wieder aufgenommen worden war. Zum Nachweis pathologischer Mengen Kupfer mußte die Ausgangskonzentration durch eine entsprechend geringere Flüssigkeitszugabe nach der Veraschung mit dem Meßbereich der Streifen in Übereinstimmung gebracht werden.

Mit dem MERCKOQUANT [®] $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ -Test konnten wir mit 10 oder 20 ml Harn nach Veraschung den pathologischen Kupferspiegel einer akuten Vergiftung oder einer Kupferspeicherkrankheit wie der Wilson'schen Erkrankung mit großer Sicherheit halbquantitativ nachweisen. Diese Teststreifen sind wegen der einfachen Handhabung und großen Zuverlässigkeit empfehlenswert.

Der QUANTOFIX $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{++}$ -Test ähnelte im wesentlichen dem MERCKOQUANT Kupfertest. Die Ergebnisse stimmten im groben und ganzen mit den entsprechenden Farbwerten der Tabelle überein. Manchmal wurde allerdings der nächsthöhere Farbwert angezeigt, während MERCKOQUANT bei denselben

Lösungen absolut zutreffende Ergebnisse erbrachte. Der Grund für derartige Ungenauigkeiten dürfte in der starken Abhängigkeit des QUANTOFIX Kupfertests vom pH-Wert zu suchen sein. Mit zunehmendem Abstand zur Azidität von pH 5 wurde die Farbanzeige immer unzuverlässiger. Insofern war also die Handhabung umständlicher als bei MERCKOQUANT. Der QUANTOFIX-Kupfertest eignet sich trotzdem für die Aufklärung einer akuten Kupfervergiftung oder eines Morbus Wilson nach Veraschung von 10 - 20 ml Urin, und ist darum noch empfehlenswert.

Das Ionentestpapier für Kupfer der Fa. BAKER wurde den gleichen Versuchsreihen unterzogen, wie die anderen Kupferteststreifen. Aus folgenden Gründen ist es nicht zu empfehlen: Die Gebrauchsanweisung ist unklar und irreführend. Eine Farbtabelle fehlte völlig. Die Empfindlichkeit ließ zu wünschen übrig und hielt überhaupt keinen Vergleich mit den anderen Streifen aus.

Der MERCKOQUANT Chromat-Test zeichnete sich bei den Versuchen mit wässrigen Lösungen durch seine sehr einfache Handhabung und präzise Übereinstimmung der Konzentrationen mit den dazugehörenden Farbtönungen aus. Weil nach der Veraschung Chrom aber als 3-wertige Substanz vorlag, mußte es erst durch Oxidieren in Chrom (VI) überführt werden, bevor die Konzentration getestet werden konnte. Nach der Veraschung und Oxidation wurde in der Regel zu wenig Chromat angezeigt. Wahrscheinlich war der lebhafte Siedevorgang während der Oxidation für das Defizit an Chromat verantwortlich. Obwohl also eine zuverlässige quantitative Aussage über den Chromgehalt nicht gemacht werden konnte, eignete sich der MERCKOQUANT-Test prinzipiell für den Nachweis einer akuten Chromvergiftung

aus 10 ml Urin, weil die entsprechenden Chromspiegel mit dem Meßbereich der Teststreifen übereinstimmten. Normale Chromspiegel ergaben immer ein negatives Testergebnis. Auch der Nachweis chronischer Vergiftungen muß mit empfindlicheren Verfahren geführt werden.

Bei QUANTOFIX CrO_4^{--} tauchten grundsätzlich dieselben Probleme in der Anwendung auf, wie bei MERCKOQUANT: Die wässrigen Verdünnungsreihen konnten gut analysiert werden, während nach der Veraschung der Rückstand erst oxidiert werden mußte. Die Farbtabelle der Verpackung sollte verbessert werden. Der QUANTOFIX Chromatetest eignet sich für den qualitativen Nachweis von akuten Chromvergiftungen aus 10 ml Urin. Die Handhabung war aber dadurch erschwert, daß die zu prüfende Lösung auf eine Azidität von pH 5 eingestellt werden mußte.

Das Ionentestpapier CrO_4^{2-} der Firma BAKER ist weniger empfehlenswert: Eine Farbtabelle fehlte, die Gebrauchsanweisung war unklar und der Nachweisbereich gröber als bei den anderen Streifen.

Der zuverlässige Nachweis erhöhter Kupfer- oder Chromat Spiegel des Vollblutes ist uns nicht gelungen: Normal- und Vergiftungswerte des Blutes liegen so nahe beieinander, daß der Vergiftungsfall nur durch eine genaue quantitative Analyse aufgeklärt werden kann. Eine derartige Forderung überstieg aber die Möglichkeiten sämtlicher Teststreifen: es traten in fast allen Fällen - wahrscheinlich durch den Eisengehalt des Hämoglobins bedingt - grobe Störungen auf, deren Beseitigung die Ansprüche eines klinischen Schnelltests überschritten hätte. Der Nachweis pathologisch erhöhter Kupfer- oder Chromat Spiegel aus dem Harn war also dem Nachweis aus dem Blut eindeutig überlegen.

Art. Nr. 10 003

Merckoquant®

Cu / Cu²⁺ - Test(Teststäbchen zum Nachweis und zur halbquantitativen Bestimmung von Cu⁺- und Cu²⁺-Ionen)

MERCK

Eigenschaften

Große Empfindlichkeit; keine Verfärbung der Testzone, wenn der Kupfergehalt unter 2 mg/l liegt.

Der Nachweis ist halbquantitativ und selektiv.

Im pH-Bereich von 2-7 ist die Nachweisgenauigkeit unabhängig vom pH-Wert der zu prüfenden Lösung.

Gebrauchsanweisung

1. Stäbchen kurz in die zu prüfende Lösung eintauchen, daß die Testzone voll benetzt wird.
2. Die bei Gegenwart von Kupfer(I)- und Kupfer(II)-Ionen sich purpur färbende Testzone wird nach etwa 10-15 s mit der Farbskala auf der Packung verglichen und die Kupferionen-Konzentration der Lösung abgelesen. Bei Gehalten über 1000 mg/l Cu/Cu²⁺ schlägt die nach dem Olivgrün um Blau gefärbte Testzone in eine gelbe oder eine braune Färbung um. Es ist darauf zu achten, daß die gefärbte Purpurfärbung nicht mehr umschlägt und innerhalb der Packungzeit zu puffern.

Stark saure Lösungen (pH < 2) sind mit Natriumacetat zu puffern.

Einfluß anderer Kationen

Der Nachweis wird nicht gestört durch weniger als je 1000 mg/l Ag⁺, Al³⁺, As³⁺, Au³⁺, Ba²⁺, Be²⁺, Bi³⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cr³⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Hg²⁺, Hg²⁺, K⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Mo⁶⁺, Ni²⁺, NH₄⁺, Na⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Rb⁺, Sb³⁺, Sn²⁺, Sr²⁺, Ti⁴⁺, VO₃³⁻, Zn²⁺, Zr⁴⁺.

Molybdänblau stört durch seine blaue Eigenfarbe. Diese wird beseitigt durch Zugabe von KMnO₄-Kristallen. Die Lösung wird nach dem Entfernen der Färbung Anschließend wird mit HNO₃/HCl entfärbt und mit dem Teststäbchen die Kupferionen-Konzentration bestimmt.

Einfluß von Anionen

Der Nachweis wird nicht gestört durch weniger als je 1000 mg/l Br⁻, BrO₃⁻, ClO₃⁻, F⁻, MnO₄⁻, MoO₄²⁻, N₃⁻, NO₃⁻, OCN⁻, PO₄³⁻, SCN⁻, SiO₃²⁻, SO₃²⁻, SO₄²⁻, S₂O₃²⁻, SeO₃²⁻, VO₃³⁻, WO₄²⁻, Acetat, Ascorbat, Citrat, Oxalat, Succinat, Tartarat.

In Gegenwart von mehr als 500 mg/l CrO₄²⁻, JO₃⁻, S₂O₃²⁻, S₂O₄²⁻ und mehr als 250 mg/l J⁻ werden geringere Kupferionen-Konzentrationen gefunden als tatsächlich vorhanden sind. Mehr als 500 mg/l JO₃⁻ und JO₄⁻ färben das Reagenzpapier braun bis gelbbraun.

CN⁻, [Fe(CN)₆]⁴⁻ und [Fe(CN)₆]³⁻ entziehen durch Komplexbildung Kupferionen dem Nachweis.

Störende Anionen werden in üblicher Weise durch Abrauchen mit konz. Schwefelsäure entfernt.

Reagenzien

	Art. Nr.
Kalliumpermanganat zur Analyse	5082
Hydroxylammoniumchlorid zur Analyse	4616
Schwefelsäure 95-97% (etwa 1,84) zur Analyse	771
Natriumacetat zur Analyse	6257

Für die Bestimmungen von Anionen, Kationen, Peroxiden usw. stehen weitere Merckoquant[®]- und Aquamerck[®]-Teste zur Verfügung.

Bitte Prospekte anfordern.

Art. Nr. 10012
Merckquant®

Chromat-Test

Teststäbchen zum Nachweis und zur halbquantitativen Bestimmung von Chromat-Ionen

MERCK

Entscheidende Vorzüge des Merckoquant® Chromat-Tests:

Große Empfindlichkeit; es lassen sich noch 3 mg/l Chromat-Ionen durch Rosafärbung der Testzone sicher nachweisen.
Der Nachweis ist halbquantitativ, deutliche Abstufung zwischen 0, 3, 10 und 300 mg/l (oder ppm) CrO_4^{2-} (Anmerkung 1).

Große Selektivität (siehe Einfluß von Anionen und Kationen).

Anmerkung 1: 100 mg/l CrO_4^{2-} entsprechen 131 mg/l Cr_2O_3 .

Gebrauchsanweisung

25 µl der zu prüfenden Lösung gibt man so viele Tropfen Schwefelsäure zu, bis ein pH-Wert unter 1 erreicht ist. Dann stübench wird so eintauchen, daß die Testzone voll benetzt wird. Nach 15 Sek. wird die bei Gegenwart von Chromat-Ionen nach rosa bis violett verfärbte Testzone mit der Farbkala auf der Packung verglichen. Bei Gehalten über 30 mg/l CrO_3 wird soweit verdünnt, daß die entstehende Violettfärbung innerhalb der Farbkala liegt.

Einfluss anderer Anionen

[illegible]

Beseitigung von Störungen

Mit jeweils 5 ml der untergeordneten Lösung wird wie folgt verfahren:
I. Spatelepitze Titrationen mit Salzsäure 25%, auf pH 0–1 einstellen, 1 Spatelepitze Natriumazetat III zugeben und umschütteln.
II. Spatelepitze Titrationen mit Salzsäure 25%, auf pH 0–1 einstellen, 1 Spatelepitze Oxalsäure zugeben und umschütteln.
III. Spatelepitze Titrationen mit Schwefelsäure 25%, auf pH 0–1 einstellen und mit einigen Körnern Natriumazetat zum Sieden erhitzen. Sofort nach dem Erhitzen der Lösung auf Chromat prägen.

Färbung: Mit Natrionlaug 32% bei Schwefelsäure 25% auf pH 8 bis 9 einstellen. 1 Spatelguss Zinkmilch zugeben, umschütteln, filtrieren, mit Schwefelsäure 25%, auf einen pH-Wert unter 1 einstellen und messen. 30 g Ionenaustauscher Merck Lewasit[®] M 5060 in einer Glasstufe (8–10 mm) u) werden mit 10-proz. Natriumtrifluorborat so lange gewaschen, bis im Filtrat eine Salzsäure (5%) angereichert wird, mit 5-proz. Silbernitrat nach maximal 1 g/l VO, enthaltene Lösung. Salzsäure durch die Skale tropfen lassen, bis ein pH-Wert von 10 eingestellt und durch die Skale tropfen lässt (8–10 Tropfen/min). Mit 50 ml Wasser auswaschen. VO, mit ca. 70 ml 0,36 N NaOH elutieren und Säule mit 50 ml Wasser auswaschen. Chromat wird mit 80 ml Salzsäure 25% als Cs⁺-eluent und mit 20 ml Wasser nachgeschwemmt. Der Eluent muss fast zur Trockne ein und oxidiert an Luft zu einem braunen Pulver. Bei Zugabe von 10 mg Natriumpermanganat, schmelzend wie ein Stein. Bei Zugabe von 10 mg Natriumacetat, wird Nach dem Einleiten mit Schwefelsäure 25% auf einen pH-Wert unter 1 wird 5 ml mit Wasser aufgeteilt und als Chromat gefroren.

Einfluß von Kationen

Der Nachweis wird nicht gestört durch weniger als jeweils 1000 mg/l Ag⁺.

Al^{III}, Ba^{II}, Be^{II}, Ce^{IV}, Co^{II}, Cu^{II}, Mn^{II}, Ni^{II}, Rb⁺, Sr^{II}, Ti^{IV}, Tl⁺, Zn^{II}, Zr^{IV}.
As^{III}, Fe^{II}, Sb^{III}, Sn^{II}, VO^{II} und Molybdän reduzierten CrO₃ zu Cr^{III} (siehe: Be-
sonder: Hinweis).

In Gegenwart von Pb^{2+} wird schwerlösliches Bleichromat gebildet und deshalb weniger oder kein Chromat gefunden.
 Mehr als 10 mg/L As^{3+} , 100 mg/L Bi^{3+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , 25 mg/L Fe^{2+} färben das Papier rosa oder braun. Mehr als 250 mg/L Hg^{2+} färben das Papier blau.
 Molybdänblau stört durch seine Eigenfarbe.

Beileitung von Störungen

Mit jeweils 5 ml der zu untersuchenden Lösung wird wie folgt verfahren:
 A⁺: 1 Spatelspitze Kaliumcyanid zugeben, umschütteln und mit Salzsäure
 25 % auf einen pH-Wert unter 1 einstellen. (Abzug!)
 B⁺: 1 Spatelspitze Titriplex® III zugeben und umschütteln.

Cu²⁺: Die stark mineralische Lösung (pH = 0) durch eine Glasröhre von 8–10 mm Ø, geteilt mit 2 g trockenem Ionenaustauscher Merck Lewatit® S 1080 trocknen lassen (1 Tr./Sek.).

Besonderer Hinweis

Mit dem Merckoquant® Chromat-Test können auch Cr^{3+} -Ionen erfasst werden (Anmerkung 2), wenn man diese wie nachfolgend beschrieben zu Chromat oxidiert:

Zu 5 ml der Lösung ($\text{pH} > 6$) gibt man 1 Spatelspitze Natriumperoxid, kocht 5–10 min, stellt mit Schwefelsäure 25% auf einen pH-Wert unter 1 ein und füllt mit Wasser wieder auf 5 ml auf.

100 mg/l Ca^{2+} entsupern 22 mg/l CrO_3
entsupern 231 mg/l CrO_3
Anwesenheit von As^{3+} , Sn^{2+} , S^{2-} , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ und Ascor-
bat sauert man mit Schwefelsäure 25%, stark an (pH $\approx$ 0) und kocht etwa
1 min lang unter Zusatz einiger Kristalle Kaliumpermanganat. Die heiße
Lösung wird mit wenig Natriumazid unter Umschütteln entfärbt, mit Schwe-
felsäure 25%, auf einen pH-Wert unter 1 eingestellt und sofort auf Chromat
drückt.

Die Anwesenheit von Cu^+ kann mit dem Merckoquant® Cu^{+++} -Test, die Anwesenheit von Fe^{3+} mit dem Merckoquant® Fe^{3+} -Test nachgewiesen werden.

Anmerkung 2

ist die zu prüfende Chrom(III)-Lösung an Salzsäure stärker als 1 N, stört das bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entstehende Chlor den Nachweis. In diesem Falle dampft man bis fast zur Trockne ein, verdünnt mit Wasser und Schwefelsäure 25 % und oxidiert wie beschrieben.

Reaktionen

consensusautscher Merck Lowati® M 0000	5250	Art. Nr.
consensusautscher Merck Lowati® S 1000	5257	
Calumnyand	5267	
Calumnyand	5277	
Calumnyand	5287	
Calumnyand	5297	
Calumnyand	5307	
Calumnyand	5317	
Calumnyand	5327	
Calumnyand	5337	
Calumnyand	5347	
Calumnyand	5357	
Calumnyand	5367	
Calumnyand	5377	
Calumnyand	5387	
Calumnyand	5397	
Calumnyand	5407	
Calumnyand	5417	
Calumnyand	5427	
Calumnyand	5437	
Calumnyand	5447	
Calumnyand	5457	
Calumnyand	5467	
Calumnyand	5477	
Calumnyand	5487	
Calumnyand	5497	
Calumnyand	5507	
Calumnyand	5517	
Calumnyand	5527	
Calumnyand	5537	
Calumnyand	5547	
Calumnyand	5557	
Calumnyand	5567	
Calumnyand	5577	
Calumnyand	5587	
Calumnyand	5597	
Calumnyand	5607	
Calumnyand	5617	
Calumnyand	5627	
Calumnyand	5637	
Calumnyand	5647	
Calumnyand	5657	
Calumnyand	5667	
Calumnyand	5677	
Calumnyand	5687	
Calumnyand	5697	
Calumnyand	5707	
Calumnyand	5717	
Calumnyand	5727	
Calumnyand	5737	
Calumnyand	5747	
Calumnyand	5757	
Calumnyand	5767	
Calumnyand	5777	
Calumnyand	5787	
Calumnyand	5797	
Calumnyand	5807	
Calumnyand	5817	
Calumnyand	5827	
Calumnyand	5837	
Calumnyand	5847	
Calumnyand	5857	
Calumnyand	5867	
Calumnyand	5877	
Calumnyand	5887	
Calumnyand	5897	
Calumnyand	5907	
Calumnyand	5917	
Calumnyand	5927	
Calumnyand	5937	
Calumnyand	5947	
Calumnyand	5957	
Calumnyand	5967	
Calumnyand	5977	
Calumnyand	5987	
Calumnyand	5997	
Calumnyand	6007	
Calumnyand	6017	
Calumnyand	6027	
Calumnyand	6037	
Calumnyand	6047	
Calumnyand	6057	
Calumnyand	6067	
Calumnyand	6077	
Calumnyand	6087	
Calumnyand	6097	
Calumnyand	6107	
Calumnyand	6117	
Calumnyand	6127	
Calumnyand	6137	
Calumnyand	6147	
Calumnyand	6157	
Calumnyand	6167	
Calumnyand	6177	
Calumnyand	6187	
Calumnyand	6197	
Calumnyand	6207	
Calumnyand	6217	
Calumnyand	6227	
Calumnyand	6237	
Calumnyand	6247	
Calumnyand	6257	
Calumnyand	6267	
Calumnyand	6277	
Calumnyand	6287	
Calumnyand	6297	
Calumnyand	6307	
Calumnyand	6317	
Calumnyand	6327	
Calumnyand	6337	
Calumnyand	6347	
Calumnyand	6357	
Calumnyand	6367	
Calumnyand	6377	
Calumnyand	6387	
Calumnyand	6397	
Calumnyand	6407	
Calumnyand	6417	
Calumnyand	6427	
Calumnyand	6437	
Calumnyand	6447	
Calumnyand	6457	
Calumnyand	6467	
Calumnyand	6477	
Calumnyand	6487	
Calumnyand	6497	
Calumnyand	6507	

E. Merck, Darmstadt

5. Literaturverzeichnis

- ALWENS, W., BAUKE E.E., JONAS, W.: Auffallende Häufung von Bronchialkrebs bei Arbeitern der chemischen Industrie.
Mü. Med. Wschr. 83, 485 (1936)
- BAETJER, A.M.: Pulmonary Carcinoma in Chromate Workers.
Arch. Indust. Hyg. Occ. Med. 2, 487 (1950)
- BUSH, J.A., MAHONEY, J.P., MARKOWITZ, H., GUBLER, C.J., CARTWRIGHT, G.E., WINTROBE, M.M.: Studies on Copper Metabolism.
J. Clin. Invest. 34, 1766 (1955)
- CHUTTANI, H.K., GUPTA, P.S., GULATI, S.: Acute Copper Sulfate Poisoning.
Am. J. Med. 39, 849 (1965)
- CROSS, J.D., LESLIE, C.D., SMITH, H.: Copper Levels in Human Tissue.
J. Forens. Sci. Soc. 16, 311 (1976)
- EICHLER, O.: Chrom. in Hdb. d. exp. Pharm.
Herausg. von HEFFTER u. HEUBNER, 3. Teil
Berlin, Springer 1934
- ESSER, A.: Klinisch-anatomische und spektrographische Untersuchungen des ZNS bei akuten Metallvergiftungen. II. Teil
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 26, 480 (1936)

FAZEKAS, I.G.: Tödliche Kupfersulfatvergiftung nach dem Genuß besprengter Weintrauben.

Acta. Med. Leg. Soc. 17, 129 (1964)

FRISTEDT, B., LINDQUIST, B., SCHÜTZ, A., ÖVRUM, P.:
Survival in a Case of Acute Oral Chromic Acid
Poisoning with Acute Renal Failure Treated by
Haemodialysis.

Acta med. Scand. 177, 153 (1965)

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M., KITTEL, H., OPITZ, O.:
Akute tödliche Vergiftung mit Kupferoxychlorid.

Arch. Kriminol. 143, 127 (1969)

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M.: Einfache Untersuchungen
auf Gifte im klinisch-chemischen Laboratorium.
In: Klinische Chemie in Einzeldarstellung,
Band 2

Thieme, Stuttgart 1976

GELDMACHER-V.MALLINCKRODT, M., ZOBER, A., SCHELLMANN, B.:
Copper and Zinc Content of Human Brain Tissue
Paper held on the Internationale Symposium on
Clinical Chemistry and Chemical Toxicology of
Toxic Metals, Monte Carlo 1977

GRUSZ-HARDAY, E.: Spektrophotometrische Kupferbestimmun-
gen aus Leichenteilen bei drei Fällen von Kupfer-
sulfatvergiftung.

Arch. Toxikol. 24, 338 (1969)

GRUSZ-HARDAY, E.: Acute Lethal Potassium Dichromate
Poisoning.

Bull. T. IAFT 10, Nr. 1 7 (1974)

HEGGLIN, R.: Differential-Diagnose Innerer Krankheiten
Thieme, Stuttgart 1972

HENSCHLER, D. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeits-
stoffe, Band 2: Analyse in biologischem Mate-
rial. Monographie Chrom.
Verlag Chemie, Weinheim 1976

HUEPER, W.: Experimental Studies in Metal Cancero-
genesis.
J. nat. Cancer Inst. 16, 444 (1955)

HEYROTH, F.: The Metals (Toxicity of Chromium Compounds
in Industrial Hygiene and Toxicology. II).
Hrsg: PATTY, V.
Interscience Publ., New York, London 1949

IMBUS, H., CHOLAK, J., MILLER, L., STERLING, T.: Boron,
Cadmium, Chromium, and Nickel in Blood and Urine.
Arch. Environm. Health. 6, 112 (1963)

KABIERSKE, E.: Die Chromniere
Dissertation, Breslau 1880

KLEIN, W.J., METZ, E.N., PRICE, A.R.: Acute Copper Intoxi-
cation, A Hazard of Hemodialysis
Arch. Intern. Med. 129, 578 (1972)

KRELLER, G.: Polarographische Bestimmung des normalen
Kupfergehaltes menschlicher Organe für den Raum
Süddeutschland.
Dissertation, Erlangen 1979

- KUHLE, J., SCHEIBE, E., BERNT, A.: Akute tödliche Vergiftung durch Einnahme von Kaliumbichromat.
Zschr. f. Kinderheilkunde 81, 417 (1958)
- LEU, M.L., STRICKLAND, G.T., YEH, S.J.: Tissue Copper, Zinc and Manganese Levels in Wilson's Disease: Studies with the Use of Neutron Activation Analysis.
J. Lab. Clin. Med. 77, 438 (1971)
- LUDEWIG, R., LOHS, KH.: Akute Vergiftungen. Ratgeber für toxikologische Notfälle.
Marseille, München 1977
- MANUSCO, T.F.: Occupational Cancers and other Health Hazards in a Chromate Plant.
Ind. Med. Surg. 20, 358 (1951)
- MERET, S., HENKIN, R.J.: Simultaneous Direct Estimation by AAS of Copper and Zinc in Serum, Urine and Cerebrospinal Fluid.
Clin. Chem. 17, 369 (1971)
- MERTZ, W., TOEPFER, E.W., ROGINSKI E.E., POLANSKY, M.M.: Present Knowledge of the Role of Chromium.
Fed. Proceed. Vol. 33, No. 11 2275 (1974)
- MITMAN, F.W., WOLF, W.R., KELSAY, J.L., PRATHER, E.S.: Urinary Chromium Levels of Nine Young Women Eating Freely Chosen Diets.
J. Nutr. 105, 64 (1975)

- MOESCHLIN, S.: Beobachtungen und Studien über eine wenig bekannte Form von gewerblich bedingten Chromatschädigung.
Helv. med. Acta. 2, 104 (1950)
- MOESCHLIN, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen.
Thieme, Stuttgart 1964
- NÖTH, H.: Physiologische und pathologische Chromwerte des menschlichen Körpers.
Dissertation, Erlangen 1968
- PASCALE, L., WALDSTEIN, S., ENGBRING, G., DUBIN, A., SZANTO, P.: Chromium Intoxication.
J. Amer. Med. Ass. 149, 1385 (1952)
- PERRY, H., SCHROEDER, H.: Lesions Resembling Vitamin B Complex Deficiency.
Amer. J. Med. 22, 168 (1957)
- PIPER, W.: Innere Medizin
Springer, Berlin 1974
- POECK, K.: Neurologie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte.
Springer, Berlin 1978
- PSCHYREMBEL, W.: Klinisches Wörterbuch.
De Gruyter, Berlin 1972
- RABBENO, A.: Pharmakologische und toxikologische Untersuchungen über die Chromverbindungen.
Arch. ital. Sci. farmacol. 1, 397 (1932)

- REED, G.B., BUTT, E.M., LANDING, B.H.: Copper in Childhood Liver Disease.
Arch. Path. 93, 249 (1972)
- SCHALLER, K.-H., ESSING, H.-G., VALENTIN, H., SCHÄCKE, G.:
Quantitative Chrombestimmung im Harn mit flammenloser Atomabsorptions-Spektrometrie.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 10, 434 (1972)
- SCHETTLER, G. (Hrsg.): Innere Medizin. Band II.
Thieme, Stuttgart 1976
- SCHLATTER, C., KISSLING, U.: Akute, tödliche Vergiftung mit Bichromat.
Beitr. gerichtl. Med. 30, 382 (1973)
- SCHROEDER, H., BALASSA, J., TIPTON, J.: Abnormal Trace Metals in Man - Chromium.
J. Chron. Dis. 15, 941 (1962)
- SPANNAGEL, H.: Eine Untersuchungsmethode zur Bestimmung von Chrom in Blut und Urin.
Zbl. Arbeitsmed. und Arbeitsschutz 1, 15 (1951)
- STAEMLER, M.: Die Harnorgane. In: KAUFMANN, E. (Hrsg.): Spezielle pathologische Anatomie, Band II/1
De Gruyter, Berlin 1957
- TIESS, D., HERBER, F.: Zur Morphologie und Analytik einer akut-tödlichen Kaliumdichromat-Kaliumhexacyanoferrat (III)-Intoxikation.
Arch. Toxikol. 27, 273 (1971)

WIRTH, W., HECHT, G., GLOXHUBER, G.: Toxikologie-Fibel
für Ärzte, Apotheker, Naturwissenschaftler,
Juristen und Studierende.
Thieme, Stuttgart 1971

Ich danke Herrn Prof. Dr. H.-B. Wuermeling für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes an seinem Institut und für die Übernahme des Korreferates.

Sehr herzlich bedanken möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt für die Überlassung des Themas und die freundliche und aufgeschlossene Beratung in vielen kniffligen Fragen. Mein Dank gilt auch allen Mitarbeitern der Abteilung für Toxikologie, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Lebenslauf

Am 16.6.1953 wurde ich in Coburg in Oberfranken als Sohn des Uhrmachermeisters Walter Rückert und seiner Ehefrau Herta, geb. Knörndel, geboren.

Ich besuchte seit 1959 in Coburg die Volksschule und anschließend das altsprachliche Gymnasium Casimirianum, wo ich 1972 die Reifeprüfung ablegte.

Von 1972 bis 1974 diente ich bei der Luftwaffe und begann anschließend mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen. Dort bestand ich im Juli 1979 das Staatsexamen.

Seit Oktober 1979 arbeite ich als Assistenzarzt in Herzogenaurach.

